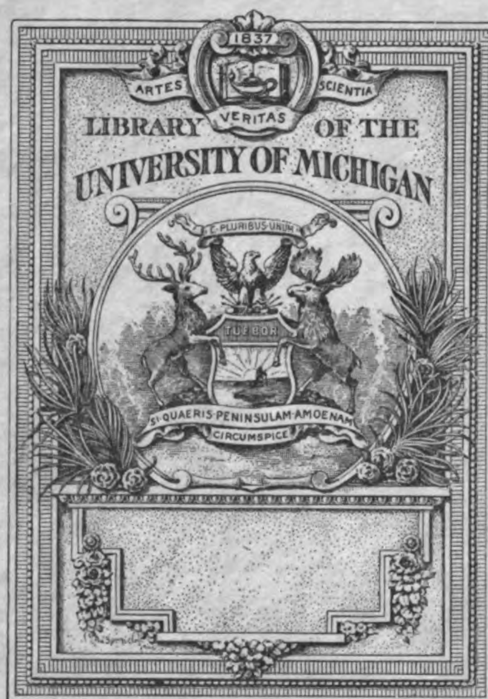

1837
ARTES
VERITAS
SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
TUEBOR
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE



ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

HERAUSGEGEBEN

VON

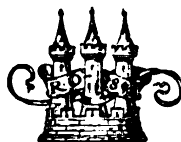
J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN

ZWEIUNDSIEBZIGSTER BAND

Mit 6 Abbildungen und 1 Tafel



MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1910

Inhalt.

Quantitative Untersuchungen über die Reduktionswirkung der Typhus-Coli-Gruppe.[1])

Von

Privatdozent Dr. med. **Heinrich Wichern**,

Assistenten der Klinik.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Leipzig. Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Curschmann.)

Der Einflufs der Klinik auf die Bakteriologie hat wohl den Anlafs dazu gegeben, dafs unter den allgemeinen Lebenserscheinungen der Spaltpilze ganz vorwiegend und vielleicht etwas einseitig die pathogenen Eigenschaften untersucht worden sind. Man darf aber nicht vergessen, dafs die Ernährungsverhältnisse der Mikroorganismen erst die Grundlage zur Entwicklung dieser giftbildenden Fähigkeit darstellen und deshalb keine geringere Beachtung verdienen. Auf diese wichtige Tatsache hat Rubner vor einigen Jahren besonders hingewiesen, und er schreibt in diesem Sinne mit Recht: »Eine Aufklärung über die normalen Lebensbedingungen und Ernährungsgröfsen (der Bakterien) würde von grofser Tragweite für die Erkenntnis der Krankheitserzeugung werden können.«

Für die Ernährung der Spaltpilze ist der Sauerstoff von hervorragender Bedeutung, und nach Liborius spielt sich bei den meisten Krankheiten der Kampf zwischen Körperzellen und Bakterien nicht an Orten, wo reichlich Sauerstoff vorhanden ist, ab, sondern an Stellen des Sauerstoffmangels. Daher erscheint die Untersuchung der Eigenschaften, die den Bakterien das Bestehen dieses Kampfes möglich machen, also das Studium ihrer Fähigkeit, den Sauerstoff an sich zu reissen, und der da-

1) Diese Arbeit hat der med. Fakultät zu Leipzig als Habilitationsschrift vorgelegen.

durch hervorgerufenen Reduktionswirkung auch für den Kliniker von besonderer Wichtigkeit. Es kommt noch hinzu, daſs das Wesen der Eiweiſsfäulnis gerade in dem Vorhandensein von Reduktionsvorgängen besteht und ihre Erforschung daher unsere Kenntnisse über die Darm- und Leichenfäulnis erweitern kann.

Neben dieser wissenschaftlichen Verwertung solcher Untersuchungen liegt der Gedanke an eine rein praktische Ausnutzung nahe und ist auch wiederholt aufgetaucht. So glaubte Poehl, die Reduktionskraft der Bakterien als Maſs für ihre Fähigkeit zur Bildung von Ptomainen ansehen zu dürfen. Zu besonders eingehenden Untersuchungen gab aber ferner die Hoffnung Anlaſs, die verschiedene Reduktionsfähigkeit als wichtiges differential-diagnostisches Hilfsmittel zur Unterscheidung der Spaltpilzarten benutzen zu können, worauf ich später noch einmal zurückkommen werde. In neuester Zeit endlich scheint diese Eigenschaft der Bakterien offenbar eine wichtige praktische Verwendung zur Feststellung des Keimgehaltes der Milch erlangen zu sollen, wie die Arbeiten von Seligmann, Smidt, Trommsdorff, P. Th. Müller beweisen.

Zur Erkennung der Reduktionswirkung haben von jeher in erster Linie solche Farbstoffe gedient, die Leukobasen bilden und verküpbar sind. Die wichtigsten Veröffentlichungen und Fortschritte auf diesem Gebiete mögen zum Zweck einer schnellen Übersicht kurze Erwähnung finden. Helmholtz benutzte 1843 als erster den Lackmusfarbstoff zur Erkennung von Reduktionsvorgängen bei der Fäulnis; nachdem dann Ehrlich 1885 mit Hilfe verschiedener Farbstoffe seine bekannten Untersuchungen über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus veröffentlicht hatte, studierten Cahen, sowie Buchner und Behring in ähnlicher Weise das Reduktionsvermögen der Bakterien an einzelnen Reinkulturen. Durch Spina, Baginsky und Petruschky wurden diese Untersuchungen auf weitere Farbkörper und Mikroorganismen ausgedehnt, und Rothberger unterzog daraufhin eine groſse Zahl von Farbstoffen einer eingehenden Prüfung auf ihre Brauchbarkeit für solche Zwecke. Kurz vorher hatte Smith neben Spina darauf aufmerksam gemacht, daſs die gebräuch-

lichen Nährböden selbst schon ein mäfsiges Reduktionsvermögen haben, und klärte damit einige Widersprüche in den früheren Arbeiten auf. Die ganze Frage wurde weiterhin von Fr. Müller durch eine grofse Reihe von Versuchen einer ausführlichen und sorgfältigen Kritik unter Berücksichtigung aller Fehlerquellen gewürdigt; schliefslich betonte Wolff noch die Notwendigkeit eines möglichst dichten Abschlusses der zu beobachtenden Kultur gegen den Luftsauerstoff, um eine Reoxydation der Leukobase zu verhindern, und gab selbst zu diesem Zweck die Überschichtung mit Paraffinum liquidum als geeignetes Mittel an.

Die meisten Arbeiten dieser Art fallen in die Zeit, in der die Klinik die heute allgemein übliche, einfache Methode der bakteriologischen Blutuntersuchung noch nicht kannte und besonders zum frühzeitigen Nachweis von Typhusbazillen häufig allein auf die Stuhluntersuchung angewiesen war. Es lag daher nahe, dafs die Auffindung eines differentialdiagnostischen Merkmals zwischen Typhus- und Colibazillen oft, wie schon angedeutet wurde, zum leitenden Gedanken bei dem Studium über die Reduktionswirkung der Mikroorganismen wurde. Dafs tatsächlich Unterschiede im Reduktionsvermögen beider Bakterien bestehen, ist auf verschiedene Weise festgestellt worden. Lunkewicz und Dieudonne zeigten, dafs Coli viel schneller Nitrate in Nitrite verwandelt, als Typhus, und E. und A. Kindborg benutzten diese Eigenschaft unter Verwendung von Säurefuchsin zur Herstellung eines neuen Nährbodens für die Züchtung von Typhusbazillen aus Fäzes, bei dem allerdings die Bildung von Säure aus Milchzucker durch Bact. coli ebenfalls eine Rolle spielt. Elsner wies die stärkere Reduktionskraft des Bact. coli an einer Kartoffelabkochung, der er Hydrochinon zusetzte, nach, und Capaldi und Proskauer gaben an, dafs Bact. coli molybdänsaures Ammonium im Gegensatz zum Typhuserreger stark reduziert. Die Arbeiten von Cafsedebat, Holz, Fr. Müller und Rothberger ergaben weitere Unterschiede beider Bakterien in ihrem Verhalten gegen reduktionsfähige Farbstoffe, unter denen Methylenblau, Lackmus, Fuchsin, Brillant-, Smaragd-, Methyl-, Jod- und Malachitgrün genannt sein mögen. Im Gegensatz zu

diesen Farbstoffen wird nach Wolff das Orcein durch den Typhusbazillus stärker reduziert als durch Bact. coli; vermutlich beruht auch das von Fregonneau kürzlich festgestellte Verhalten des Typhuserregers gegen Methylorange auf Reduktionswirkung. Besondere Beachtung hat das Safranin und vor allem das Neutralrot gefunden, weil beide nach den Mitteilungen Rothbergers nur durch den Colibazillus verändert werden. Goldberger, Scheffler u. a. haben sich daher eingehend mit der Verwendung dieser Farbstoffe zum Nachweis von Typhusbazillen in Fäzes beschäftigt. Wenn auch seitdem vielleicht dem Neutralrot wirklich eine gewisse praktische Bedeutung für die Differentialdiagnose zwischen beiden Bakterien zukommt, so haben sich doch im allgemeinen die Hoffnungen, die auf diese Art der Unterscheidung gesetzt wurden, nicht erfüllt.

Es stellte sich eben gewöhnlich bald heraus, dafs in dem Reduktionsvermögen der beiden Mikroorganismen weniger qualitative, als quantitative Unterschiede vorhanden waren, wodurch eine schnelle und sichere Erkennung des einen oder anderen auf den zu untersuchenden Platten unmöglich wurde. Für die Zukunft dürften daher auch weitere Versuche in dieser Richtung wenig aussichtsvoll sein, wenn es nicht gelingt, die Reduktionsfähigkeit künstlich zu beeinflussen. Diese Möglichkeit mag im ersten Augenblick sehr gering erscheinen; doch sei zunächst darauf hingewiesen, dafs wir dazu schon in der Wachstumshemmung des Bact. coli und anderer Fäzeskeime durch Koffein (Roth) oder Malachitgrün (Löffler) ein geeignetes Mittel besitzen. Aufserdem findet sich in der Literatur — allerdings teilweise ziemlich verstreut — eine gröfsere Zahl von Angaben, die auf eine unmittelbare Beeinflussung des Reduktionsvermögens der Bakterien hinweisen. Smith hatte schon beobachtet, dafs Temperaturunterschiede bei mehrere Tage alten Kulturen, denen er Methylenblaulösung zusetzte, einen Einflufs auf die Geschwindigkeit der Reduktion ausübten. Sehr eingehende Untersuchungen in dieser Richtung haben dann Cathcart und Hahn, sowie kürzlich Carapelle an Suspensionen von Bakterien, die auf Agar gewachsen waren, oder an verschieden alten Bouillon-

kulturen angestellt. Sie konnten übereinstimmend nachweisen, dafs die Reduktion des Methylenblau bei 0° und Zimmertemperatur langsamer verläuft, als bei 37—40° C; eine Erwärmung auf 60° und darüber verringert oder vernichtet, wie auch Deutsch angibt, die Reduktionsfähigkeit. Ganz frische Kulturen brauchen — wohl wegen des noch ungenügenden Wachstums der Keime — längere Zeit zur Entfärbung als 1—4 Tage alte; nach dieser Zeit aber pflegt das Reduktionsvermögen auch wieder merklich abzunehmen. Auf Zusatz antiseptischer Mittel, wie Phenol, Formol, Thymol (Deutsch), zu den Kulturen tritt eine starke Hemmung der Reduktion ein, die nach P. Th. Müller auch in bakterienreicher Milch deutlich hervortritt; Chloroform, Alkohol und Toluol haben in kleinen Mengen eine geringere schädigende Wirkung (Cathcart und Hahn, Deutsch). Alkalische Reaktion scheint die Entfärbung des Methylenblau zu begünstigen, Säuren haben dagegen zweifellos einen stark schädigenden Einflufs. Diese Versuche habe ich mit 1—2 Tage alten Bouillonkulturen von Bact. coli. einer Nachprüfung unterzogen und fand obige Ergebnisse bestätigt. Im Widerspruch mit der Arbeit von Cathcart und Hahn steht die Angabe Carapelles, dafs das Sonnenlicht auf die Reaktion selbst einen begünstigenden Einflufs ausübt; er mag dabei wohl nicht genügend beachtet haben, dafs auch sterile Methylenblaubouillon, wie Fr. Müller schon feststellen konnte, durch das Sonnenlicht entfärbt wird. Von Wichtigkeit erscheint mir die Angabe Cathcarts und Hahns, dafs das Medium der Suspension bei den Reduktionsvorgängen eine grofse Rolle spielt. Vor allem erhöht ein gewisser Gehalt des Nährbodens an Eiweifs, dessen verschiedene Arten sich jedoch ungleich verhalten, das Reduktionsvermögen. Bei Gegenwart stickstoffhaltiger Körper vermag ein Zusatz von Salzen eine beschleunigende Wirkung auf die Reaktion auszuüben. Durch konzentriertere Lösungen von Natriumsulfat, Rohrzucker und Glyzerin bleibt die Reduktionsfähigkeit länger, als sonst, erhalten. Anaerob gewachsene Kulturen desselben Keimes weisen unter gleichen Bedingungen ein erheblich stärkeres Reduktionsvermögen auf, als aerobe, was vermutlich durch die schädigende

Wirkung des Luftsauerstoffs zu erklären sein wird. Besondere Beachtung verdienen noch die Versuche über den Einflufs verschiedener Sera auf die Reaktion. Neisser und Wechsberg wiesen zuerst nach, dafs bakterizides Serum die Reduktion durch Milzbrand aufhebt, Deutsch zeigte eine gleichartige, schwächende Wirkung spezifischen (aktiven) Immunserums auf Kulturen des Bact. coli und will sogar durch Impfung von Tieren mit Filtraten des Mikrokokkus ureae (in Urin) ein Serum gewonnen haben, das eine »substance antiréductrice«, wie er schreibt, enthielt, was Cathcart und Hahn in einem eigenen Versuche nicht bestätigt fanden.

Bei allen diesen Untersuchungen wurde also nur der chemische Vorgang der Reduktion selbst beeinflufst, ohne dafs dabei der Zustand und das Wachstum der Keime berücksichtigt wurde. Vom biologischen und praktischen Standpunkte ist aber wohl die Frage einer Einwirkung auf die Reduktionsfähigkeit der Mikroorganismen während des Wachstums viel wichtiger. Auf die Möglichkeit einer Beeinflussung der Ernährungsverhältnisse weisen uns, abgesehen von den vielen Varietäten mancher Spaltpilze, schon Cramers Untersuchungen über die veränderliche Zusammensetzung der Bakterien auf verschiedenen Nährböden hin. Für das Bact. coli stellte ferner Cache beispielsweise fest, dafs es nur auf magnesiumhaltigen Nahrböden trotz ausreichenden Wachstums auf anderen Substraten Zucker vergärt. Es darf deshalb auch nicht verwunderlich erscheinen, wenn ebenfalls im Reduktionsvermögen eines Bakterienstammes einmal Änderungen vorkommen. Petruschky gibt ganz im allgemeinen an, dafs eiweifs- und peptonhaltige Nährböden die Reduktionswirkung erhöhen; ebenso glaubte Klett auf einigen Nährböden bessere Reduktionswirkung zu sehen, als auf anderen. In ähnlicher Weise teilt Wolff mit, dafs Bact. coli Methylgrün und Safranin zwar auf Agar und Bouillon, nicht aber auf Gelatine reduziert; der Typhusbazillus zeigt das gleiche Verhalten, entfärbt aber aufserdem Methylviolett in Agar und Gelatine nicht, während in Bouillonkulturen Reduktion eintritt. Ferner sah Klett bei einigen aus dem Wasser gezüchteten Keimen erst nach mehrmaligem Umimpfen auf künstliche Nährböden reduzierende Eigen-

schaften auftreten und dann zunehmen. Umgekehrt fand Lösener bei einer länger fortgezüchteten Colikultur ein auffallend geringeres Reduktionsvermögen, als bei frischen, aus Milch gezüchteten Stämmen, wobei allerdings eine Verschiedenheit der Stämme wesentlich in Betracht zu ziehen ist. Für einen Einflufs der Temperatur spricht die Angabe Cahens, dafs einzelne Bakterienarten nach Überschreitung einer gewissen Wärmegrenze, z. B. Spirillum Finkler jenseits 27° C die Reduktionsfähigkeit bei gleichbleibendem Wachstum verlieren. Ähnliches beobachtete Klett an einem Heubazillus, der Methylenblau bei 15 ° C im Gegensatz zum Verhalten bei 37 ° kaum entfärbte, allerdings auch nicht so üppig wuchs. Endlich ist noch eine gewisse Abhängigkeit des Reduktionsvermögens von der Virulenz bemerkenswert. So sah Behring schon, dafs virulente Milzbrandbazillen Rosolsäure-agar stark entfärbten, abgeschwächte Kulturen dagegen nicht, während sie sich (nach einer zweiten Mitteilung) gegen Lackmus gerade umgekehrt verhielten. Mit letzterem Befund steht die Angabe Kletts im Einklang, dafs ein Milzbrandstamm nach zweimaliger Impfung auf weifse Mäuse Natrium selenosum schwächer reduzierte, als der gleiche, auf künstlichen Nährböden fortgezüchtete Stamm. Dagegen konnte Carapelle an Stämmen von Typhus, Coli, Staphylokokkus aureus und Prodigiosus beobachten, dafs gröfsere Virulenz offenbar mit schnellerer Reduktionswirkung verknüpft war.

Die Ergebnisse aller dieser Versuche sind, wenn sie auch von zuverlässigen Beobachtern stammen, doch nur mit gewisser Vorsicht zu verwerten, weil die Wachstumsverhältnisse der Bakterien meist nur mit wenigen Worten erwähnt, jedenfalls aber nur schätzungsweise angegeben wurden. Auch für die Beurteilung der reduzierenden Fähigkeiten hatte man vielfach keinen sicheren und genauen Mafsstab. Ehrlich hat bekanntlich den Gedanken ausgesprochen, durch Verwendung mehrerer Farbstoffe, die schwerer oder leichter reduzierbar sind und dabei also mehr oder weniger Wärme verbrauchen (absorbieren), einen Anhalt für die Reduktionskraft zu gewinnen. Unter der Voraussetzung also, dafs für diese Körper die Wärmetönung zahlenmäfsig feststeht,

liefse sich aus ihnen eine Stufenfolge aufstellen, die, je nachdem ein Mikroorganismus einen Farbstoff mit höherer oder niederer Bindungswärme für Sauerstoff in seine Leukobase verwandelt, ein ziemlich genaues Mafs für seine Reduktionskraft ergeben müfste. Hinweise auf die Anwendung dieses Prinzips zu quantitativen Bestimmungen solcher Art bei Bakterien finden sich bei Smith, Rambousek, Wolff u. a.; da aber die erforderlichen thermochemischen Messungen noch ausstehen, können wir einstweilen auf diese Weise nur sehr weite Grenzwerte abschätzen. Daher gaben Deutsch, Carapelle, sowie Cathcart und Hahn zur Bestimmung des Reduktionsvermögens die Zeit an, in der eine gewisse Menge Methylenblau von gleichaltrigen Kulturen (Deutsch, Carapelle) oder, was richtiger sein dürfte, von abgewogenen Massen verschiedener Bakterien (Cathcart und Hahn) völlig entfärbt wurde. Weniger genau ist die Bemessung der Reduktionsfähigkeit nach der Schnelligkeit, mit welcher der durch Schütteln mit Luft reoxydierte Farbstoff wieder reduziert wird, oder nach der Häufigkeit, mit der eine solche Entfärbung nach einander stattfinden kann (vgl. Fr. Müller, Deutsch), Germano und Maurea endlich unterschieden bei ihren mehrere Tage beobachteten Kulturen je nach dem Mafse der Aufhellung des gefärbten Agars 4 Stufen der Reduktion.

Erst bei Wolff findet sich ein Versuch, ein chemisch-quantitatives Verfahren zur Bestimmung des reduzierten Farbstoffs auszuarbeiten, indem er eine Reoxydation mit hypermangansaurem Kali, Wasserstoffsuperoxyd und chlorsaurem Kali vornahm. Die titrimetrischen Bestimmungen ergaben aber sehr ungenaue Zahlen, weil die Reaktion nur allmählich und ungleichmäfsig auftrat und der ursprüngliche Farbenton nicht wieder herzustellen war. Als weiterer Fehler kam wohl noch hinzu, dafs dieser langsam verlaufenden Oxydation die fortschreitende Reduktion durch die Bakterien entgegenwirkte. Es mufs daher von vornherein als aussichtsreicher gelten, keine Reoxydation, sondern eine weitere Reduktion des Farbstoffs zum Prinzip der Methode zu machen und als Endpunkt der Reaktion die völlige Entfärbung zu wählen. Auf diesem Grundsatz beruht ein kürzlich

von mir ausgearbeitetes Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Reduktionswirkung von Bakterien, bei dem das von Knecht und Hibbert zuerst in die volumetrische Analyse eingeführte Titantrichlorid als Reduktionsmittel Anwendung findet. Der Zweck der vorliegenden Arbeit soll es sein, einige damit gewonnene Ergebnisse mitzuteilen.

Über die Wahl des Farbstoffs, der gerade für die ersten Versuche dieser Art besonders geeignet war, konnte kaum ein Zweifel entstehen, denn nach dem übereinstimmenden Urteil fast aller, die sich mit diesen Fragen beschäftigt haben, hat sich das Methylenblau stets am besten bewährt, und wegen seiner häufigen Verwendung für biologische Untersuchungen hat Michaelis vor einiger Zeit seine chemischen Eigenschaften ausführlich geschildert. Die grofsen Vorteile dieses Farbstoffs für unsere Zwecke sind, wie besonders Fr. Müller, Wolff, Carapelle, Cathcart und Hahn u. a. hervorgehoben haben, kurz folgende: er ist wasserlöslich, durch einfaches Schütteln mit Luft leicht verküpbar und — im Gegensatz zu den Angaben Cahens und v. Sommarugas, die ihn wohl nicht rein benutzten — für die meisten Bakterien ebenso, wie die Leukobase, ungiftig; nur Cholera- und Milzbrandbakterien werden, wie Wolff bestätigen konnte, durch ihn im Wachstum gehemmt. Vor allem ist er aber auch seiner chemischen Konstitution nach genau bekannt und im Handel chemisch rein zu erhalten[1]), was leider auf die meisten der sonst zum gleichen Zweck verwendeten Farbstoffe nicht zutrifft. In Übereinstimmung mit Cathcart und Hahn möchte ich es schliefslich noch als einen Vorteil bezeichnen, dafs das Methylenblau ziemlich leicht reduzierbar ist und sich dadurch zu vergleichenden Untersuchungen an vielen Bakterienarten eignet.

Die Art der Versuchsanordnung ist unter Erwähnung aller in Betracht kommenden Fehlerquellen in meiner schon angeführten Arbeit eingehend erörtert worden; es werden deshalb bei den hier zu schildernden Versuchen nur die Abweichungen von den früheren Angaben zu berichten sein. An dieser Stelle sei jedoch darauf aufmerksam gemacht, dafs Knecht und Hibbert inzwischen einige von mir noch nicht nachgeprüfte Abände-

1) Das von mir ausschliefslich verwendete Methylenblau medicinale Höchst bezog ich von der Firma Dr. G. Grübler-Leipzig.

rungen ihrer bisherigen Methode zur Einstellung der Titanlösung veröffentlicht haben; zugleich berichtigten sie ihre früheren Mitteilungen dahin, dafs bei der Titration des Methylenblau (in Übereinstimmung mit meinen Angaben) der Zusatz von Seignettesalz unterbleiben soll.

Zum Abschlufs der Kulturen von Luftsauerstoff diente bei allen Versuchen eine 5 cm hohe Schicht von Paraffinum liquidum; Wolff, der, wie gesagt, zuerst diese unbedingt notwendige Vorsichtsmafsregel empfohlen hat, erwähnt merkwürdigerweise in seiner sonst sehr sorgfältigen Arbeit mit keinem Wort eine auffällige Erscheinung, die ich regelmäfsig feststellen konnte und daher kurz anführen möchte. Kurze Zeit, nachdem in den Kulturen eine kräftigere Reduktionswirkung der Keime durch Aufhellung der farbigen Nährlösung erkennbar wird, entsteht jedesmal eine langsam zunehmende und nicht wieder verschwindende Blaufärbung des darüber geschichteten Paraffins. Läfst man es in der Kultur zu völliger Entfärbung kommen und schüttelt dann den Inhalt des Gläschens kräftig durch, so zeigt die Kultur nach Sonderung der beiden Schichten wieder blaue Färbung, und diese verschwindet offenbar erst nach erneuter Reduktion des Farbstoffs durch die Bakterien. Die Erscheinung ist nur so zu erklären, dafs die in der Kultur entstandene Leukobase im Gegensatz zum Farbstoff in wässeriger Lösung (Bouillon) schlechter löslich ist, als in Paraffin (oder darin enthaltenen Stoffen), und deshalb allmählich in dieses hineindiffundiert. Durch den von oben hinzutretenden Luftsauerstoff erfolgt dann langsam eine Reoxydation, und das dabei wieder hergestellte Methylenblau fällt vermutlich, da es in Paraffin nicht löslich zu sein scheint, in Gestalt feinster Teilchen aus. Beim Schütteln des Gläschens tritt ein Teil des Farbstoffes wieder in die Bouillonkultur, und zwar in gelöstem Zustande, über. Einen Versuchsfehler bedingt dieser Vorgang natürlich nicht; er kann im Gegenteil insofern als günstig aufgefafst werden, als dadurch der an und für sich schon geringe Fehler, der durch den nicht völlig luftdichten Abschlufs des Paraffins bedingt ist (vgl. dazu Wolff, S. 229), noch vermindert wird, weil eben ein grofser Teil des reduzierten Farbstoffs durch den Übertritt ins Paraffin der Gefahr einer Reoxydation nicht mehr ausgesetzt ist.

Es geht aus den bisherigen Ausführungen ohne weiteres hervor, dafs eine chemisch-quantitative Methode zur Bestimmung der Reduktionswirkung zu einer grofsen Reihe von Untersuchungen Gelegenheit gibt, zumal ihre Anwendung nicht auf bakteriologische Fragen beschränkt ist, sondern auch für die biologische Erforschung der Lebensvorgänge mancher Zellen (z. B. Leukozyten) und für das Studium der reduzierenden Eigenschaften tierischer Organe, wie an anderer Stelle schon hervorgehoben wurde, in Betracht kommen kann. Es war also nötig, aus der Fülle des sich bietenden Stoffes zunächst einmal eine eng umgrenzte Frage herauszugreifen und ihre Lösung mit Hilfe des neuen Verfahrens

zu versuchen. Die vorliegende Arbeit soll sich deshalb damit beschäftigen, für die Typhus-Coli-Gruppe einen Vergleich zwischen Wachstum und Reduktionsvorgang anzustellen, sowie bei ihr den Verlauf und die Gröfse der Reduktionswirkung wachsender Kulturen zu bestimmen.

Die Typhus-Coli-Gruppe habe ich gewählt, weil sie medizinisch von besonders grofser Wichtigkeit ist und neben anderen biologischen Eigenschaften gerade ihre Reduktionsfähigkeit sehr gründlich untersucht worden ist, so dafs ein Vergleich mit früheren Versuchsergebnissen besonderes Interesse bietet. Ein Vorzug dieser Gruppe ist es auch, dafs sie unter anaeroben Bedingungen, wie sie bei diesen Untersuchungen ja gegeben sind, annähernd ebensogut wächst, wie unter aeroben Verhältnissen.

Wegen der grofsen Variabilität, die nach allen neueren Forschungen gerade dieser Bakteriengruppe eigen zu sein scheint, ist es zum Vergleich mit späteren Untersuchungen notwendig, die Herkunft und Virulenz der in den folgenden Versuchen benutzten Stämme, sowie ihr Verhalten auf künstlichen Nährböden kurz zu erörtern. Über letzteres kann zusammenfassend dahin berichtet werden, dafs sämtliche Stämme bei künstlicher Züchtung ein durchaus typisches Wachstum und Verhalten zeigten, wie es u. a. im Kolle-Wassermannschen »Handbuch der pathogenen Mikroorganismen« (Bd. II und Erg.-Bd. I) und in der Lehmann-Neumannschen »Bakt. Diagnostik« (4. Aufl.) als charakteristisch geschildert wird. Die Prüfung erstreckte sich für alle Arten und Stämme auf folgende Nährböden: Bouillon, Gelatine, Glyzerinagar, Traubenzuckeragar, Lackmusmilch, Peptonwasser, Lackmusmolke, Kartoffel, und die von Conradi und Drigalski, Rothberger-Scheffler und Endo angegebenen Nährböden. Bemerkenswert ist dabei nur, dafs Stamm S. des Bact. coli kein Indol bildete, Stamm B. dagegen sehr reichlich.

Über die Benennung, Herkunft und Virulenz der Stämme gibt folgende Übersicht Auskunft;

Bact. coli: Stamm S. und Stamm B.

Herkunft: Beide Stämme waren einige (etwa 2—4) Monate vor Beginn der Versuche aus menschlichen Fäzes isoliert und seitdem nur auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet worden.

Virulenz: Stamm S.:

2 Meerschweinchen (350 und 380 g) erhielten 0,2 ccm einer 24 stünd. Bouillonkultur intraperitoneal und starben nach 18 Stunden.

Stamm B.:

1 Meerschweinchen (350 g) erhielt 0,2 ccm einer 24 stünd. Bouillonkultur intraperitoneal und starb nach 3 Tagen.

Bact. typhi: Stamm B., Stamm G. und Stamm K.

Herkunft: Sämtliche Stämme waren aus dem Blute Typhuskranker etwa 2 (K.), 3 (G.) oder 4 (B.) Monate vor Beginn der Versuche gewonnen worden, und zwar Stamm B. von einem sehr leichten Falle (Fieberstadium nur 5 Tage), Stamm G. von einem mittelschweren Falle (Febr. continua um 39°), der nach 19 tägigem Fieberstadium durch Darmblutung und -perforation ad exitum kam, endlich Stamm K. von einem sehr schweren Fall, der nach 11 tägigem Fieber (40°) starb.

Virulenz: Für Tiere nicht geprüft.

Agglutinationsfähigkeit: Bei sämtlichen Stämmen gut.

Bact. paratyphi: Typus A: Stamm A und Typus B: Stamm B.

Herkunft: Beide Stämme wurden aus Králs Laboratorium in Prag bezogen.

Virulenz:

Stamm A.: Mehrere Mäuse, die 0,2—0,4 ccm einer 24—36 stündigen Bouillonkultur subkutan erhielten, erkrankten an starker Enteritis, blieben aber am Leben.

Stamm B.: 1 Meerschweinchen (370 g) erhielt 0,05 ccm einer 24 stünd. Bouillonkultur subkutan und starb nach 18 Stunden.

Um nun den Verlauf des Reduktionsvorganges festzustellen und gleichzeitig damit das Wachstum der Kulturen vergleichen zu können, wurde beides zunächst in einigen Versuchen nebeneinander beobachtet. Aus einer Aufschwemmung einer Bouillonkultur (1 ccm auf 50 ccm 0,6 proz. NaCl-Lösung) wurde je eine Öse in ein Röhrchen, das 10 ccm Bouillon mit Zusatz von etwa 0,1 ‰ Methylenblau enthielt[1]), geimpft und die Nährlösung mit Paraffin überschichtet. Sämtliche Versuche fanden bei Brutschrank-Temperatur, die geringen Schwankungen zwischen 36,2 bis 37° C unterworfen war, statt. Zu bestimmten Zeiten wurde in je 2 Röhrchen die Menge des noch nicht reduzierten Methylenblaus mit der Titanlösung festgestellt und aus einem dritten Gläschen mit einer sterilen Pipette 1 ccm entnommen, in 100 ccm 0,6 proz. Kochsalzlösung verdünnt und davon 0,1 ccm, in Versuch 4 und 5 verschiedene Mengen zwischen 0,2 und 0,02 ccm auf je 3 Agarröhrchen, die zu Platten ausgegossen wurden, verimpft.

1) In Versuch 1 wurde je 1 ccm einer Methylenblaulösung (mit 0,85 % NaCl) zu den in dem Gläschen vorhandenen 10 ccm Bouillon hinzugefügt; in allen anderen Versuchen wurde der Farbstoff in der Nährlösung vor dem Einfüllen in die Röhrchen aufgelöst.

Bei dünner Besäung (bis 5000 Kolonien) wurden die ganzen Platten mit Hilfe einer Lupe und des Lafarschen Zählnetzes, bei höherem Keimgehalt 30—40 Gesichtsfelder (in einigen Fällen nur 20) unter Benutzung eines Zeifsschen Mikroskops (Objektiv a3, Okular II mit Netzmikrometer, Tubuslänge 15,2) ausgezählt und daraus die Zahl der Kolonien in bekannter Weise berechnet.

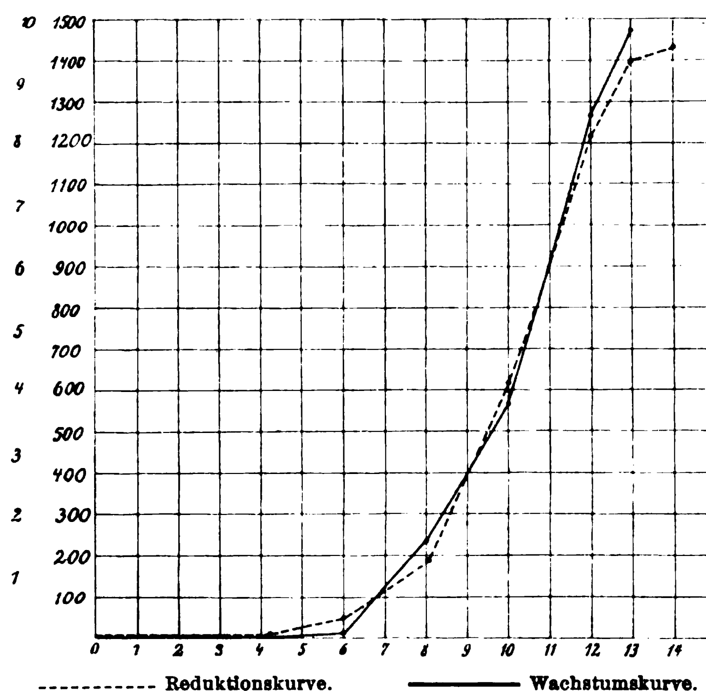
Die Ergebnisse dieser Versuche gehen aus den beigegebenen Tabellen (I—V) hervor, die auch alle Angaben über den Titer der Titanlösung, die zur Aussaat gelangten Bakterienmengen usw. enthalten. Um die Tabellen gleichmäfsiger und übersichtlicher zu gestalten, wurde in Versuch 4 und 5 wegen der bei Herstellung der Platten angewandten, ungleichen Verdünnungen nicht, wie in den anderen Fällen, die Kolonienzahl der einzelnen Platten, sondern die aus ihr berechnete Keimzahl für 10 ccm angegeben. Einen guten Überblick über den Gang der chemischen Reaktion und den Verlauf des Wachstums der Bakterien gewähren die aus Versuch 1 und 5 zusammengestellten Kurven (s. Kurventafel I und II), mit denen auch die übrigen Versuchsergebnisse völlig im Einklang stehen.

Diese Kurven und die in den Tabellen aufgeführten Zahlen geben uns natürlich nur dann ein richtiges Bild von dem Verlauf und dem gegenseitigen Verhältnis der Reduktion und des Wachstums, wenn sich beide Vorgänge in allen Röhrchen annähernd gleichmäfsig abspielten. Dieser Annahme steht wohl nichts im Wege, weil die Aussaat ziemlich gleichmäfsig erfolgte und alle Gläschen unter gleichen Bedingungen gehalten wurden. Tatsächlich liefs sich auch beobachten, dafs die Aufhellung der gefärbten Nährlösung in allen Röhrchen fast ganz gleichmäfsig fortschritt; eine besondere Auswahl wurde unter den Gläschen bei der Entnahme aus dem Brutschrank nicht getroffen, sondern vorher eine bestimmte Reihenfolge dafür festgesetzt.

Die Versuche lassen — was in den Kurven besonders deutlich zum Ausdruck kommt — zunächst erkennen, dafs in den ersten Stunden nach der Einimpfung fast kein Wachstum der Keime auftritt. Dieses Inkubationsstadium, das den Bakterien vermutlich zur Anpassung an die neuen Ernährungsbedingungen

dient, ist schon öfter beschrieben (vgl. Hehewerth, Rubner) und für den Typhusbazillus von M. Müller eingehender untersucht worden. Nach Ablauf dieses Stadiums tritt eine außerordentlich rasche Vermehrung der Keime auf, die den steilen Anstieg der Kurve bedingt; bei Bact. coli setzt diese Zunahme des Wachstums eher ein und verläuft viel kürzer als beim Typhus-

Kurventafel I.
Reduktions- und Wachstumskurve des Bact. coli.
(Versuch 1.)

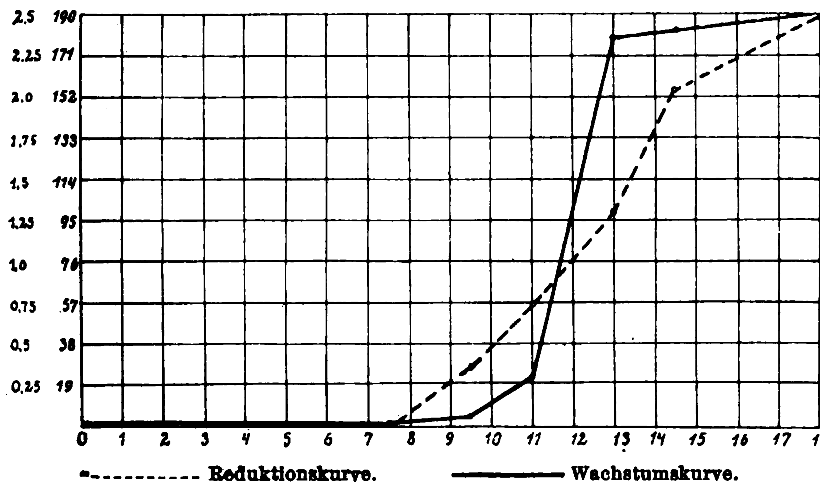


Auf der Abszisse ist die Zeit in Stunden, auf der Ordinate die Keimzahl in Millionen und die Menge reduzierten Methylenblaus in Dezimilligramm eingetragen.

bazillus. Nach einem gewissen Zeitraum tritt aber für beide wieder eine Abnahme der Vermehrungstätigkeit auf, die dann sogar fast aufhören kann. Auf diese Verhältnisse wird später zurückzukommen sein; in den genannten Versuchen wurde der weitere Verlauf des Wachstums nicht mehr untersucht, doch kommt dieses Verhalten bei Bact. typhi in der Wachstumskurve der letzten Stunden des Versuches ein wenig zum Ausdruck.

Der Ablauf des Reduktionsvorganges ähnelt fast in allen Einzelheiten den für das Wachstum geschilderten Verhältnissen; auch hier findet sich ein Inkubationsstadium, ein bei Bact. coli sehr schnell, bei Bact. typhi etwas später und langsamer erfolgender Anstieg der Reduktionskurve und ein allmähliches Nachlassen am Ende des Versuches. Ein Absinken, wie es die Wachstumskurve einmal zeigen könnte, kann bei der Reduktionskurve natürlich nicht vorkommen, wenn durch

Kurventafel II.
Reduktions- und Wachstumskurve des Bact. typhi.
(Versuch 5.)



Auf der Abszisse ist die Zeit in Stunden, auf der Ordinate die Keimzahl in Millionen und die Menge reduzierten Methylenblaus in Dezimilligramm eingetragen. (Die nach 16 $^{1}/_{2}$ Std. gefundene Keimzahl ist nicht berücksichtigt.)

genügenden Sauerstoff-Abschlufs eine Reoxydation der Leukobase verhindert wird. Ist dieses aber nicht der Fall, so tritt tatsächlich langsam wieder eine stärkere Blaufärbung der Kultur auf, was von den meisten früheren Untersuchern schon hervorgehoben worden ist. Auffallenderweise hat dagegen der übrige, hier geschilderte Verlauf des Reduktionsvorganges bisher offenbar keine Beachtung gefunden, obgleich er auch ohne chemisch-quantitative Methode an der nach mehreren Stunden plötzlich auftretenden und rasch zunehmenden Aufhellung der Nährlösung leidlich erkennbar ist.

Aus dem völlig gleichmäfsigen Verlauf des Reduktionsvorganges und Wachstums sind wir auf Grund der vorliegenden Versuche wohl zu dem Schlusse berechtigt, dafs zwischen Reduktionswirkung und Vermehrungstätigkeit der beiden Bakterien ein Zusammenhang besteht. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, dafs das Reduktionsvermögen allein von der Fortpflanzungsfähigkeit abhängig ist. Im Gegenteil ist nach den Untersuchungen Cathcarts und Hahns die Reduktionsfähigkeit der Bakterien nicht an ihre Vermehrungsfähigkeit geknüpft. Dafs die reduzierende Wirkung aber ein Ausdruck der Fortpflanzungstätigkeit sein kann, haben schon verschiedene Forscher vermutet, bisher jedoch nicht zahlenmäfsig feststellen können. Wenn dieser Beweis durch obige Versuche für Bact. coli und typhi erbracht ist, so mufs dabei gerade mit Rücksicht auf die Angaben Cathcarts und Hahns die Einschränkung hinzugefügt werden, dafs dieses zunächst nur für frische und in regem Wachstum befindliche Kulturen gilt.

Ein Vergleich der von Bact. coli und typhi reduzierten Mengen des Methylenblau zeigt, dafs durch ersteres der gesamte in den Röhrchen vorhandene Farbstoff entfärbt wurde, während beim Typhusbazillus schon vor der völligen Entfärbung ein Nachlassen oder Aufhören des Wachstums und damit fast ein Stillstand des Reduktionsvorganges eintrat. Deshalb liegt die Vermutung nahe, dafs Bact. typhi vielleicht durch den Zusatz des Metylenblau viel stärker in seiner Vermehrungstätigkeit gehemmt wird, als Bact. coli, und dafs somit die obigen Versuchsergebnisse unter ungleichen Bedingungen für beide Keime gewonnen wurden. Diese Frage konnte durch vergleichende Beobachtung des Wachtums beider Bakterien in Bouillon ohne und mit Zusatz von Methylenblau entschieden werden. Es ist von vornherein klar, dafs, wenn das Methylenblau, wie zu erwarten ist, überhaupt eine Wachstumshemmung hervorruft, seine Konzentration für weitere Versuche möglichst gering zu wählen sein wird; dabei mufs aber beobachtet werden, dafs mit Rücksicht auf die durch die Titration festzustellenden Unterschiede der Farbstoffmengen zu verschiedenen Zeiten des

Versuches die Anfangskonzentration nicht unter ein gewisses Maſs herabgehen darf. Diese Überlegung führte dazu, daſs zum Ausgleich der geringeren Konzentration in dem folgenden, wie in allen späteren Versuchen, gröſsere Mengen von Nährlösung verwendet wurden.

Statt der bisher gebrauchten Präparatengläser kamen nunmehr Erlenmeyersche Kölbchen (100 ccm) in Anwendung und wurden mit je 50 ccm der Nährflüssigkeit beschickt, die, wie früher, mit einer 5 cm hohen Paraffinschicht bedeckt wurde. Bei dem zunächst zu schildernden Versuch, der das Maaſs der durch Methylenblau bewirkten Wachstumshemmung feststellen sollte, enthielt immer ein Kölbchen keinen Zusatz des Farbstoffes zur Bouillon, ein zweites 0,05 proz. und ein drittes 0,1 proz. Methylenblau. In diese Kölbchen wurde mit einer sterilen Pipette je 0,03 ccm einer Aufschwemmung der Bakterien in 0,6 proz. Kochsalzlösung (2—3 Ösen auf 10 ccm) eingeimpft und nach gewisser Zeit in gleicher Weise, wie bisher, (Versuch 4 und 5) die Zahl der Keime festgestellt.

Aus der Versuchstabelle VI geht hervor, daſs bei beiden Bakterien in den mit Methylenblauzusatz versehenen Gläsern das Wachstum verzögert ist. Bei der stärkeren Konzentration des Farbstoffs ist die Hemmung gegenüber der schwächeren erhöht; die damit nicht ganz übereinstimmenden Zahlen der beiden Stämme B in den späteren Stunden dürften in die Grenzen der Versuchsfehler fallen. Die aus der zweiten Entnahme gewonnenen Zahlen sind aber überhaupt nur von zweifelhaftem Werte, da wahrscheinlich schon Absterbeerscheinungen in den Kulturen aufgetreten waren; dagegen sind die nach achtstündiger Versuchsdauer erhaltenen Ergebnisse durchaus eindeutig und wohl auch einwandfrei.

Um ein Vergleichsmaſs für die Wachstumshemmung der beiden Bakterienarten zu gewinnen, wurde die Generationsdauer während der ersten acht Stunden des Versuches berechnet. Ein Blick auf die in Tab. VII aufgeführten Werte genügt, um sich davon zu überzeugen, daſs die durch das Methylenblau bewirkte Verzögerung im Wachstum, die sich in einer entsprechenden Verlängerung der Generationsdauer ausspricht, für beide

Bakterien ungefähr dieselbe ist, also in dieser Beziehung keinen Fehler bei vergleichenden Untersuchungen bedingt. Die früher erörterte, unvollständige Reduktion des Farbstoffs durch Bact. typhi in den Versuchen 3—5 ist also auf andere Ursachen zurückzuführen.

Dabei ist zunächst an die Erschöpfung des Vorrats bestimmter für den Typhusbazillus notwendiger Nahrungsstoffe und an einen dadurch bedingten Stillstand der Fortpflanzung zu denken; denn in den Typhusröhrchen blieb die höchste, überhaupt erreichte Keimzahl bedeutend hinter der beim Colibazillus festgestellten zurück. Aufserdem spielt aber zweifellos der Unterschied in dem Reduktionsvermögen beider Bakterien eine wichtige Rolle. Aus den bisherigen Versuchen, die Wachstum und Reduktion nur neben einander zu beobachten gestatteten, können natürlich keine Schlüsse auf die Gröfse der Reduktionswirkung gezogen werden; dazu ist es vielmehr nötig, die reduzierte Menge des Methylenblau und die Keimzahl in der gleichen Kultur festzustellen. Auf diese Weise mufs es sogar gelingen, nicht nur Vergleichswerte für die untersuchten Mikroorganismen zu gewinnen, sondern auch absolute Gröfsen, die uns die von einer bestimmten Anzahl lebender Bakterien in einer gewissen Zeiteinheit reduzierte Farbstoffmenge angeben. Da der ungeheuren Masse von Keimen nur aufserordentlich winzige Mengen von Farbstoff gegenüberstehen, begegnen diese Untersuchungen ziemlich grofsen Schwierigkeiten, zumal es sich gleichzeitig nicht um feststehende, sondern um veränderliche und fortwährend wachsende Gröfsen handelt.

Deshalb erschien es wünschenswert, vorerst in der Literatur nach ähnlichen Untersuchungen und der dabei angewandten Versuchsanordnung Umschau zu halten. Die Zahl der einschlägigen Arbeiten ist, wie zu erwarten war, offenbar recht gering. Es fehlt zwar nicht an Untersuchungen, in denen gewisse, durch Bakterien hervorgerufene, chemische Umsetzungen quantitativ verfolgt werden; aber fast regelmäfsig wird dabei das Wachstum der Keime nur durch den Augenschein beurteilt und nicht zahlenmäfsig festgestellt. Infolgedessen sind viele dieser um-

ständlichen und mühsamen Versuche von sehr geringem Wert; eine scharfe, aber treffende Kritik darüber enthalten folgende einer Arbeit Rubners (S. 284) entnommenen Sätze:

»Wir würden es unbegreiflich finden, wenn jemand Studien über den Konsum von Nahrungsmitteln oder die Bildung von Stoffwechselprodukten an zwei verschiedenen Tierarten anstellen wollte, ohne dafs er sich vergewissert, wieviele Individuen von beiden Arten vorhanden seien und welches Körpergewichtsmafs sie repräsentieren.

Wenn demnach derartige, den Stoffwechsel betreffende Untersuchungen einen wirklichen Wert haben sollen, so müssen sie, wenn es eben nicht nur auf qualitative Unterschiede ankommt, mit Erntebestimmungen irgendwelcher Art verbunden werden.«

Rubner erwähnt in diesem Zusammenhange u. a. die Arbeit Hesses »über die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Bakterien«; leider finden sich in ihr, wie auch Gottschlich (S. 184) bedauernd hervorhebt, ebenfalls nur schätzungsmäfsige Angaben über die Vermehrungsenergie. Gerade für die im folgenden zu berichtenden Untersuchungen würden genauere Feststellungen nach dieser Richtung von grofsem Wert gewesen sein.

Eine Ausnahme machen, soweit ich wenigstens die deutsche Literatur übersehe, neben der schon erwähnten und einigen anderen Arbeiten Rubners wohl nur die Untersuchungen von Burchard (»Beiträge zur Kenntnis des Ablaufs und der Gröfse der durch Mikrokokkus ureae liquefaciens bewirkten Harnstoffzersetzung«), Haacke (»Beiträge zur Kenntnis der quantitativen Zersetzung des Milchzuckers durch den Bazillus acidi lactici«) und Berghaus (»Über die Ammoniakbildung bei einigen Bakterienarten«). In den folgenden Ausführungen werden daher diese Arbeiten, obwohl sie zur Reduktionswirkung der Bakterien keine Beziehung haben, mehrfach zum Vergleich herangezogen werden.

Dazu gibt schon die Schilderung der Versuchsanordnung und die Erörterung ihrer Fehlerquellen einen Anlafs. Sollen

in einer Kultur gleichzeitig die vorhandenen Spaltpilzmengen und gewisse durch sie bewirkte chemische Leistungen festgestellt und während des Wachstums weiter verfolgt werden, so läfst sich dieser Zweck am besten durch Anlegen der Kultur in einem grofsen, mit Nährlösung gefülltem Kolben und durch zeitweilige Untersuchung kleiner aus ihm entnommener Mengen erreichen, wie es bei Burchard und Haacke geschehen ist. Zur Erforschung der Reduktionsvorgänge erwies sich diese Methodik jedoch als unmöglich, weil sich der Zutritt des Luftsauerstoffs bei der Entnahme der Proben nicht vermeiden liefs. Die Aussaat mufste also, wie bisher (Versuch 6), in einer gröfseren Reihe von Kölbchen (vgl. Berghaus) erfolgen, die darauf einzeln und nach einander zu bestimmten Zeiten untersucht wurden. Nach den in einigen Vorversuchen (vgl. auch Versuch 6) gewonnenen Erfahrungen war für die Nährbouillon ein Gehalt von etwa 0,05 ‰ Methylenblau zur Titration ausreichend, wenn die Flüssigkeitsmenge 50 ccm betrug. Die Titration geschah stets sofort nach Entnahme der zur Feststellung der Keimzahl bestimmten Menge, und ihr Hauptfehler besteht, wie in der früheren Arbeit angeführt wurde, in der Gefahr des Übertitrierens, wodurch die noch vorhandene Menge des Farbstoffs zu grofs, die reduzierte zu klein gefunden würde. Daraus folgt, dafs in einem solchen Falle die auf eine bestimmte Zahl von Bakterien berechnete chemische Leistung zu gering ausfällt.

Während die übrigen durch die chemische Methodik bedingten Fehler schon früher an anderer Stelle genügende Erwähnung gefunden haben, sind hier noch die Mängel der anzuwendenden bakteriologischen Technik etwas eingehender zu erörtern.

Bei der Aussaat war eine möglichst gleichmäfsige Verteilung der Keime auf die einzelnen Kölbchen anzustreben und wurde in ziemlich befriedigender Weise, wie die Zählung der ausgesäten Mengen auf mehreren Platten bei jedem Versuch ergab, durch die Verwendung sehr feiner, geaichter Pipetten erreicht. Es ist vorteilhaft, keine allzu grofse Zahl von Keimen zur Aussaat zu bringen; auch dürfte das Alter der Ausgangs-

kultur nicht ganz gleichgültig sein, weil bei Benutzung frischer Kulturen das Inkubationsstadium nach M. Müller abgekürzt wird. Bei jedem Versuch ist daher das Alter der Stammkultur angegeben und beträgt fast immer 6—8 Stunden, wenn nicht unvorhergesehene Zwischenfälle und Störungen zur Verwendung älterer Kulturen (Versuch 8 und 9) zwangen.

Die Erntebestimmung erfolgte durch das Koch-Neissersche Zählplattenverfahren in gleicher Weise, wie in den früheren Versuchen (4—6); das Ansaugen von 1 ccm der Kultur in eine vorher verschlossen unter die Paraffinschicht geführte, sterile Normalpipette bereitete niemals Schwierigkeiten. Die weiterhin notwendigen Verdünnungen waren so gewählt (s. o.), dafs auf den Platten eine Behinderung der Kolonien im Auswachsen durch eine zu dichte Besäung sicher ausgeschlossen war (vgl. M. Müller).

Die so getroffene Entscheidung über das zu wählende Verfahren zur Bestimmung der Keimzahl ist wohl die schwierigste Frage der Methodik solcher Untersuchungen. Bei meinen Versuchen erschien eine Wägung der in Betracht kommenden geringen Bakterienmengen unmöglich, und es wurde daher, wie es auch Burchard, Haacke und Berghaus getan haben, unter den von verschiedenen Seiten ausgearbeiteten Zählmethoden der bekanntesten und am meisten eingebürgerten der Vorzug gegeben. Ihre Schattenseiten und Mängel sind schon so oft und ausführlich — besonders in den Arbeiten von Neisser, Hehewerth, Hesse und Niedner — beschrieben worden, dafs an dieser Stelle darauf verzichtet werden kann. Die dort genannten Fehler wurden teilweise dadurch verringert, dafs nur in frischer Entwicklung befindliche Kulturen untersucht wurden, und im übrigen durch sorgfältige Beachtung der in jenen Arbeiten gegebenen Vorschriften möglichst vermieden. Trotzdem ist wohl anzunehmen, dafs die gefundenen Keimzahlen etwas hinter der Wirklichkeit zurückblieben und damit also bei der Berechnung der Einzelleistung zu hohe Werte erhalten wurden. Es trifft hier also das Gegenteil von dem zu, was als Hauptfehler der chemischen Methodik angeführt wurde, und dadurch ist wenigstens

die Möglichkeit eines gewissen Ausgleichs und nicht die Gefahr einer Summation beider Fehler gegeben.

Wenden wir uns nunmehr einer Betrachtung der unter solchen Bedingungen erhaltenen Versuchsergebnisse zu, die in den Tabellen VIII—XXI aufgeführt sind, so dürfen wir zunächst erwarten, auch aus den hier gewonnenen Werten einige Schlüsse auf den Gang der Reduktion und des Wachstums ziehen zu können. Die aus den Zahlen dieser Versuche berechneten Kurven müfsten demnach den gleichen Verlauf, wie jene früheren, zeigen; doch werden sie vermutlich keine so grofse Regelmäfsigkeit aufweisen, wie z. B. die aus Versuch 1 für Bact. coli gewonnene, weil nicht drei, wie es damals geschah, sondern immer nur ein Kölbchen z. Zt. untersucht wurde. Denn, wenn wir auch theoretisch die Annahme eines gleichmäfsigen Fortschreitens von Reduktion und Vermehrung in allen Gläschen machen, so trifft das doch in der Praxis natürlich nicht völlig zu, und das eine oder andere Kölbchen wird darin hinter den übrigen zurückbleiben oder ihm vorauseilen. Sieht man also von solchen kleinen Schwankungen der Werte im Verlaufe der Untersuchungen ab, so finden wir, wie ein flüchtiger Blick auf die Versuchsreihen lehrt, unsere früheren Feststellungen über Wachstum und Reduktion des Bact. coli und typhi durchaus bestätigt. Das berechtigt uns dazu, auch für die beiden Paratyphusstämme, die in diesen Versuchen ein völlig gleiches Verhalten wie Coli und Typhus zeigen, denselben Zusammenhang zwischen Reduktion und Vermehrungstätigkeit anzunehmen, wie für die beiden anderen Mikroorganismen.

Der eigentliche Zweck unserer zweiten Versuchsreihe war aber nicht diese Bestätigung der bisherigen Befunde, sondern die Bestimmung der Reduktionsgröfse der untersuchten Spaltpilze. Zur Berechnung dieser Gröfse ist die für Bakterien wohl zulässige Annahme erforderlich, dafs die Vermehrung in regelmäfsiger (geometrischer) Progression stattfindet. Wir können dann der Berechnung das geometrische Mittel aus der ausgesäten und geernteten Keimzahl zu Grunde legen und die reduzierte Farbstoffmenge durch dieses dividieren, dann mit 1000 multiplizieren und endlich den so erhaltenen Wert noch durch die

Stundenzahl der Versuchsdauer dividieren. Auf diese Weise erlangen wir erstens die Reduktionsgröfse von 1000 Keimen, während der ganzen Versuchszeit und zweitens die Reduktionsgröfse von 1000 Keimen in einer Stunde. Dieser letztere Wert stellt die wahre Reduktionsgröfse dar und kann gewissermafsen mit den Geschwindigkeitskonstanten einer chemischen Reaktion verglichen werden. Denn, wenn das Reduktionsvermögen der Spaltpilze unter gleichen Bedingungen überhaupt eine gleichbleibende Fähigkeit ist, so müssen die so berechneten Zahlen auch annähernd konstant sein.

In den Tabellen XXII—XXV sind diese Werte für alle in Betracht kommenden Einzelversuche ausgerechnet, und die Reduktionsgröfse (s. Stab 8 und 9) ist, um bequeme Ziffern zu erhalten, in millionstel Milligramm ausgedrückt. Aus diesen Zahlenreihen ist ersichtlich, dafs abgesehen von kleinen Unregelmäfsigkeiten, die natürlich ebenfalls auf dem erörterten ungleichen Verhalten der einzelnen Kölbchen beruhen, im allgemeinen die Reduktionsgröfse vom Beginn bis zum Schlufs der Versuche allmählich ansteigt und eine Stufenfolge von etwa 10—100 millionstel Milligramm und darüber durchläuft. Vergleicht man damit die ebenfalls in den Tabellen berechnete Generationsdauer (s. Stab 11), so weist diese eine ganz entsprechende, langsame Zunahme nach dem Ende der Versuche hin auf. Es wäre nun durchaus falsch, daraus folgern zu wollen, dafs bei längerer Generationsdauer die chemische Leistung der Bakterien gröfser wird. Diesen Fehlschlufs hat Burchard bei seinen Untersuchungen über die Harnstoffzersetzung durch den Mikrokokkus ureae gemacht, und er schreibt sogar: »Je schneller die Teilung vor sich ging, desto weniger wurde zersetzt, und es sieht fast so aus, als ob die Zersetzung geringer würde, wenn die Vermehrung eine besonders rege wäre. Sollte sich die Erscheinung bestätigen lassen und auch bei anderen Spaltpilzen nachzuweisen sein, so würde damit auf die Lebensvorgänge im Spaltpilzkörper ein neues Licht geworfen.« Haacke glaubt die gleiche Erscheinung bei der Zersetzung des Milchzuckers durch den Bacillus acidi lactici Hueppe beobachtet zu haben.

Die Unrichtigkeit und Unzulässigkeit einer solchen Schlufsfolgerung ergibt sich aus folgender Betrachtung: Für die Bestimmung der Generationsdauer ist von Hehewerth u. a. nachgewiesen worden, dafs eine zu lange Versuchsdauer einen bedeutenden Fehler bedingt, weil in den Kulturen verhältnismäfsig bald Absterbeerscheinungen auftreten. Die Menge der auf den Platten ausgezählten Keime wird daher zu klein, und die Berechnung der Teilungszeit eines Keims ergibt dementsprechend zu hohe Werte. Die gleiche Fehlerquelle kommt natürlich auch für die quantitative Bestimmung chemischer Leistungen an wachsenden Kulturen in Betracht. Burchard und Haacke (s. oben) berechneten ihre Werte für die Zersetzungsgröfse erst nach 72stündiger Versuchsdauer. Wenn sie auch ziemlich grofse Mengen von Nährlösung benutzten, so darf doch wohl mit gröfster Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dafs in so langer Zeit schon ein Teil der Keime seine Lebens- oder Vermehrungsfähigkeit verloren hatte; jedenfalls wäre es nötig gewesen, den Gang des Wachstums bis zu jenem Zeitpunkte auf sein fortwährendes und ziemlich gleichmäfsiges Ansteigen hin zu kontrollieren, was aber nicht geschehen ist. Auch meine Versuche (besonders 14 und 17), die teilweise absichtlich zu diesem Zweck auf längere Zeit ausgedehnt wurden, lassen das Vorhandensein dieser Fehlerquelle deutlich erkennen. In Versuch 17 steigt die Reduktionsgröfse des Bact. paratyphi A (1000 Keime und 1 Stunde) scheinbar auf 120—133 millionstel Milligramm, und, wenn durch weitere Fortsetzung des Versuches die Zahl der fortpflanzungsfähigen Keime noch abgenommen hätte, so würden wir noch erheblich höhere Zahlen erhalten haben.

Aus dieser Erörterung geht schon hervor, dafs es recht schwierig sein wird, die richtigen Werte, d. h. die der Wirklichkeit am nächsten liegenden, herauszufinden. Es müfsten dazu in jedem Falle erst mühsame und zeitraubende Feststellungen über den Beginn der Absterbeerscheinung gemacht werden. Für unsere Zwecke liegt insofern schon ein verwertbares Untersuchungsergebnis dieser Art vor, als Hehewerth für Bact. coli, das in 25 ccm Nährbouillon eingeimpft wurde, nach etwa 10 Stunden

die Maximalzahl der noch lebenden Keime gefunden hat. Für die Abnahme und den Stillstand der Vermehrung kommt ja vorwiegend die Erschöpfung des Nährbodens in Betracht, wie schon früher einmal gestreift wurde; aufserdem tritt wohl noch eine Hemmung durch die eigenen Stoffwechselprodukte der Bakterien ein. Der Zeitpunkt einer Herabsetzung der Fortpflanzungsfähigkeit in einer Kultur wird daher von der Beschaffenheit und Menge der Nährflüssigkeit abhängen. Ferner spielt das Alter der Ausgangskultur eine gewisse Rolle, und endlich wird natürlich bei gleichem Vorrat an Nährstoffen die Menge der Aussaat von ausschlaggebender Bedeutung sein.

In unseren Versuchen war die Menge und Art der Nährlösung stets gleich; es ist aber zu berücksichtigen, dafs, wie früher festgestellt worden ist, der Zusatz von Methylenblau eine Verzögerung des Wachstums bedingt. Die von Hehewerth für Bouillon angegebene Zahl von 10 Stunden bis zum Beginn der Absterbeerscheinungen des Bact. coli wird also in unseren Versuchen vermutlich etwas gröfser sein, zumal 50 statt 25 ccm Nährflüssigkeit benutzt wurden; auch kommt für eine solche Verlängerung der Zeit vielleicht noch der Abschlufs des Sauerstoffs in Frage. — Das Alter der Stammkulturen zeigte nur geringe Unterschiede; allerdings mufste in Versuch 8 und 9 im Gegensatz zu den sonst benutzten frischen eine dreitägige Stammkultur in Gebrauch genommen werden, weil die rechtzeitig angesetzten Kulturen nicht gewachsen waren und ein Aufschub der Versuche aus äufseren Gründen nicht möglich war. Während in beiden Fällen dadurch wohl nur eine geringe Wachstumsverzögerung verursacht worden ist, hatte — was ja leicht verständlich ist — die Menge der Aussaat einen sehr erheblichen Einflufs auf den zeitlichen Verlauf des Versuches. War die eingeimpfte Keimzahl gering, so trat der plötzliche Anstieg der Kurve entschieden später, als bei grofser Aussaat, ein, und die Dauer des lebhaftesten Wachstums wurde also um eine gewisse Zeit hinausgeschoben. Es erscheint daher geradezu notwendig, zwischen den Versuchen mit hoher und niedriger Aussaatmenge zu unterscheiden, und, da die Masse der ausgesäten Keime

in allen Versuchen zwischen 250 (Versuch 17) und 5500 (Versuch 19) schwankte, wurde als Grenze die Zahl 3000 angenommen.

Unter Berücksichtigung der vorstehenden Ausführungen dürfte also die Zeit der lebhaftesten Vermehrung des Bact. coli für eine Aussaat von mehr als 3000 Keimen bei einer Versuchsdauer von 9—11 Stunden, für eine geringere Aussaat bei einer Versuchsdauer von 10—12 Stunden liegen; für Bact. typhi liegt dieser Zeitabschnitt zwischen 11 und 13 Stunden im ersten, zwischen 12 und 14 Stunden im zweiten Falle. Für Bact. paratyphi B endlich, das mit seinen ganzen Eigenschaften dem Colibazillus näher steht, sind die Werte für Coli, für Bact. paratyphi A dagegen diejenigen des Typhus als wahrscheinlichste angenommen worden. Es soll nicht geleugnet werden, dafs bei der Festlegung dieser Zeiten eine gewisse Willkür möglich ist; prüft man aber sämtliche Versuchsreihen auf die Zu- und Abnahme oder das Gleichbleiben der Bakterienmengen durch, so wird man anerkennen müssen, dafs die angegebenen Stundenziffern tatsächlich am besten die Zeit des lebhaftesten Wachstums begrenzen, soweit eben überhaupt solche Versuchsergebnisse sich in ein bestimmtes Schema einzwängen lassen.

Die für die genannten Zeiten gültigen Werte der Reduktionsgröfse (für 1000 Keime und 1 Stunde) sind in einer besonderen Tabelle (XXVI) zusammengestellt. Bedenkt man, dafs es sich bei diesen »Mittelwerten« um millionstel Milligramm handelt, und berücksichtigt man die zahlreichen Fehlerquellen solcher Versuche (veränderliche Titrationslösung, eigenes Reduktionsvermögen des Nährbodens, unvollkommener Sauerstoffabschlufs, Unterschiede in der Aussat, Fehler des Zählplattenverfahrens und der Berechnung usw.), so ist die Übereinstimmung dieser Werte überraschend gut. Einige wenige weichen von der grofsen Mehrzahl der übrigen so wesentlich ab, dafs sie ohne Bedenken ausgeschaltet werden können. Sie sind eben, wenn nicht Titrations-, Zähl- oder andere Fehler vorliegen, dadurch bedingt, dafs in den zugehörigen Kulturen ein stark verzögertes oder beschleunigtes Wachstum stattgefunden hatte. Im allgemeinen läfst sich jedoch mit ziemlich grofser Bestimmtheit sagen, dafs

die Reduktionsgröfse der Typhus-Coli-Gruppe für 1000 Keime und 1 Stunde bei lebhaftestem Wachstum etwa 28—30 millionstel Milligramm Methylenblau beträgt. Aus der gleichen Tabelle (XXVI) geht weiterhin hervor, dafs die mittlere Reduktionsgröfse des Typhusbazillus kleiner ist, als die des Bact. coli; wenn sich auch keine ganz genauen Ziffern aufstellen lassen, so mag sich doch der für Bact. coli zutreffende Wert auf ungefähr 30—33, der des Bact. typhi auf 24—26 millionstel Milligramm belaufen. Ein erkennbarer Unterschied zwischen den einzelnen Stämmen ist dabei nicht vorhanden. Die Werte für Bact. paratyphi B liegen zwischen den soeben für Coli und Typhus genannten, scheinen aber denen des Typhusbazillus etwas näher zu stehen. Über die Reduktionsgröfse des Paratyphus A lassen sich keine sicheren Angaben machen, weil in zwei Versuchen das Wachstum offenbar durch die zu geringe Aussaat sehr verzögert war; der dritte Versuch (15) ergab wenigstens denen der übrigen Bakterien angenäherte Werte.

Eine gewisse Bestätigung erhalten die für Bact. coli und typhi genannten Zahlen noch durch die Anordnung der Versuche 9 und 14, bei denen neben dem Zählplattenverfahren die von Winterberg angegebene Methode der Keimzählung mit Hilfe der Thoma-Zeifsschen Zählkammer Anwendung fand. Dadurch sollte nämlich nicht nur die Menge der noch lebens- und keimfähigen Bakterien, sondern auch die Zahl der auf den Platten nicht mehr auswachsenden oder zu Verbänden zusammengefügten ermittelt werden. Solange nun die mit beiden Zählmethoden gewonnenen Werte gleich sind, können noch keine Absterbe-Erscheinungen in den Kulturen aufgetreten sein; sobald aber die Kammerzählung höhere Werte ergibt, hat die Wachstumskurve schon den Gipfel überschritten und die kurz vorher gefundenen Zahlen für die Reduktionsgröfse stellen die Maximalwerte dar. — Aus den Kölbchen wurde also in diesen beiden Versuchen zweimal je 1 ccm entnommen und, während der eine in der früher berichteten Weise zur Herstellung der Zählplatten diente, wurde der zweite mit 10 ccm sterilen, destillierten Wassers verdünnt und aus dieser Aufschwemmung ein

Tropfen in die Zählkammer gebracht. Da dieses ja nicht immer in ganz einwandsfreier Weise glückt, wurden 6 Zählkammern bereitgehalten und von diesen zur Auszählung nur solche benutzt, bei denen alle zum Gelingen notwendigen Bedingungen erfüllt waren. Soweit es irgend möglich und mit der zur Verfügung stehenden Zeit vereinbar war, wurden 2 Kammern und in diesen sämtliche 400, mindestens aber 100 kleine Quadrate ausgezählt und daraus die Keimzahl für 50 ccm berechnet.

Trotz aller Vorsicht fielen beide Versuche nicht so gut aus, wie es zu erhoffen gewesen wäre. Zunächst war ungünstigerweise die Aussaat in beiden Fällen ziemlich klein, und bei Bact. coli mufste aufserdem eine ältere Stammkultur benutzt werden, wodurch wahrscheinlich die Wachstumsverzögerung noch ein wenig vermehrt wurde. Gegen alle Erwartung sind ferner die durch die Kammerzählung gewonnenen Werte häufig hinter denen des Plattenverfahrens zurückgeblieben. Eine bestimmte Erklärung für diese Erscheinung vermag ich nicht zu geben; jedenfalls halte ich eine weitere Vermehrung der Bakterien in dem noch flüssigen Agar bis zu seiner Erstarrung — woran natürlich gedacht werden könnte — für sehr unwahrscheinlich, und glaube eher, dafs die zur Zeit des besten Wachstums auch besonders lebhafte Beweglichkeit der Bakterien nicht alle Keime auf den Boden der Zählkammer niedersinken liefs, obgleich das zur Verdünnung benutzte Wasser stark abgekühlt war und vor der Auszählung mindestens eine halbe Stunde gewartet wurde. Es sei bemerkt, dafs die Verteilung in der Kammer ziemlich gleichmäfsig war und keine stärkere Ansammlung am Rande des Tropfens stattfand.

Wenn nun auch infolge des nicht völligen Gelingens der beiden Versuche die gefundenen Zahlen nur mit Vorsicht zu verwerten sind, so kann man doch vielleicht aus ihnen einen Anhalt für die ungefähre Höhe der Maximalwerte finden. Bei Bact. coli (Versuch 9) übersteigt die Anzahl der in der Kammer gezählten Keime nach $14^1/_4$ Stunden die mit dem Plattenverfahren ermittelte Menge; kurz vorher (nach 14 Stunden) ist die Zahl der mit beiden Methoden festgestellten Keime gleich

oder kann doch als gleich angesehen werden, wenn man berücksichtigt, dafs die Werte der Kammerzählung bis dahin stets ziemlich beträchtlich hinter den anderen zurückgeblieben waren. Hier dürfte also der Maximalwert anzunehmen sein, und er beträgt 43 millionstel Milligramm. In dem mit Bact. typhi angestellten Versuche (14) übertrifft die Kammerzählung das Plattenverfahren an Keimzahl schon nach 13 Stunden; an dieser Stelle ist also der höchste Wert für die Reduktionsgröfse sicher schon überschritten, und der wirkliche Maximalwert mufs demnach unter 39 millionstel Milligramm, also tiefer, als bei Bact. coli, liegen, was mit den früheren Ausführungen völlig übereinstimmt. — Vielleicht dürfte aber in Zukunft zur Feststellung dieser Maximalwerte anstatt des Winterbergschen Zählverfahrens besser die von Klein angegebene und von Hehewerth nachgeprüfte Methode anzuwenden sein, mit der u. a. auch M. Müller befriedigende Ergebnisse erzielt hat.

Zum Vergleich mit den aus unseren Versuchen gewonnenen Werten über die Reduktionsgröfse des Bact. coli und typhi mögen hier kurz die wenigen in der Literatur vorhandenen Angaben Platz finden, die eine quantitative Abschätzung in gleichem Sinne enthalten. Deutsch setzte zu 10 ccm einer 48stündigen Bouillonkultur einen Tropfen Methylenblau und sah, dafs Coli dieses in 2—3, Typhus in 5—8 Min. entfärbte; er schätzt daher das Reduktionsvermögen des ersteren etwa doppelt so grofs, wie das des Typhuserregers. Nach Cathcart und Hahn reduzierte eine 18stünd. Bouillonkultur (10 ccm) des Bact. coli 0,5 ccm einer Methylenblaulösung (0,1%) in 5 Min. 10 Sek., eine gleichaltrige Typhuskultur dagegen erst in 20 Min. Dieselben Zahlen fand Fr. Müller für 12tägige Kulturen in Methylenblaubouillon, die er durch Schütteln reoxydiert hatte. Sehr geringe oder gar keine Zeitunterschiede bis zum Eintritt völliger Entfärbung beobachteten dagegen Wolff und Carapelle während des Wachstums beider Bakterien in Bouillon, so dafs ersterer sogar daraus schliefst, »Coli und Typhus zeigen Methylenblau gegenüber ungefähr dasselbe Reduktionsvermögen«.

Im Anschlufs an diese Betrachtungen sei noch darauf hingewiesen, dafs die von Hehewerth und anderen bei Coli und Typhus gefundenen Werte für die kürzeste Generationsdauer, die ja ein Ausdruck für die Maximalvermehrungsfähigkeit ist, sich annähernd umgekehrt verhalten, wie die in unseren Versuchen festgestellten Zahlen der Reduktionsgröfse. Die in

unseren Tabellen für beide Mikroorganismen aufgeführten Werte der Generationsdauer zeigen geringere Unterschiede, weil dabei die ganze Inkubationszeit mit in Rechnung gezogen wurde, was sehr erheblich zum Ausgleich beiträgt. In je einem Versuche habe ich daher etwa gerade am Anfang und am Ende des Anstiegs der Wachstumskurve (Zeitunterschied $3^1/_2$ Stunden) für Coli und Typhus die Keimzahl je eines Kölbchens bestimmt (Mittelwert aus 2 Platten), und so etwa für die kürzeste Generationsdauer in Methylenblau-Bouillon bei Coli 29,7, bei Typhus 36,0 Min. erhalten, was ja dem umgekehrten Verhältnis der Reduktionsgröfsen ziemlich entspricht.

Dem mit der gröfseren Wachstumsenergie ausgestatteten Mikroorganismus kommt also auch offenbar eine entsprechend höhere Reduktionsgröfse zu. Diese können wir aber als Mafsstab für die Sauerstoffzehrung ansehen, und dadurch erlangen solche quantitativen Untersuchungen für die Erforschung des Bakterien-Stoffwechsels eine allgemeinere Bedeutung. Das Methylenblau selbst enthält freilich keinen Sauerstoff, sondern wird durch Anlagerung von 2 H-Atomen reduziert. Wir dürfen aber annehmen, dafs die Bakterien aus dem Nährboden den Sauerstoff, der ihnen nicht frei dargeboten wird, abspalten und dabei chemische Umsetzungen hervorrufen, die zur Reduktion des Farbstoffes führen. Rechnen wir daher die für das Methylenblau gewonnenen Zahlen auf die entsprechenden Sauerstoffwerte um, so ergibt sich für 1000 Keime der Typhus-Coli-Gruppe während der gröfsten Wachstumsenergie eine durchschnittliche Sauerstoffzehrung von 0,000.0013 mg in 1 Stunde; für den Colibazillus beträgt dieser Wert demnach etwa 0,000.0015 mg, für das Bact. typhi ungefähr 0,000.0011 mg.

Diese Zahlen geben uns aber keine Auskunft über die Sauerstoff-Affinität beider Mikroorganismen; denn diese wäre nur durch die bisher noch nicht ausgeführte Bestimmung der Reduktionskraft festzustellen. Dem früher schon erwähnten Vorschlage Ehrlichs, diese Messung durch eine Stufenfolge reduzierbarer Farbstoffe mit verschiedener Wärmetönung vorzunehmen, dürften praktisch grofse Schwierigkeiten entgegen-

stehen, zumal die Reaktionsgeschwindigkeit wohl ebenfalls zu berücksichtigen wäre.

Die Frage, in welcher Weise die Reduktionswirkung zustande kommt, hat zu sehr eingehenden Erörterungen geführt. Es stehen sich dabei vor allem zwei Ansichten gegenüber; nach der einen beruht die Reduktion auf Stoffwechselprodukten der Bakterien, nach der anderen ist sie auf die Zelltätigkeit des lebenden Protoplasmas zurückzuführen. Eine kritische und ziemlich vollständige Übersicht über die von den verschiedenen Seiten vorgebrachten Beweise und Gegengründe hat kürzlich Carapelle gegeben, und aus seinen Darlegungen geht hervor, dafs die reduzierende Wirkung des Bakterien-Protoplasmas bisher noch nicht völlig einwandfrei erwiesen ist. Er stellte selbst einige Versuche zur Entscheidung dieser Streitfrage an, indem er mit Methylenblauagar gefüllte Zelluloidinröhrchen in Reagenzgläser brachte, die farblosen Agar oder Bouillon enthielten und mit verschiedenen Bakterien beimpft wurden. Nach einigen Tagen trat dann im Inneren der Zelluloidinröhrchen eine Abnahme der blauen Farbe ein, die nur durch Einwirkung von Stoffwechselprodukten der Bakterien zu erklären war. In einer anderen Versuchsreihe zentrifugierte er 24stündige Bouillonkulturen längere Zeit und setzte darauf der abgehobenen keimfreien Bouillon sterile Methylenblaulösung zu. Es trat dann — in Brutofentemperatur — niemals Entfärbung auf. Ähnliche negative Ergebnisse hatte er — und vor ihm schon Smith — beim Filtrieren der Kultnren durch Chamberlandfilter, weil in den Filtraten keine reduzierenden Stoffe aufzufinden waren. Damit ist jedoch, wie Carapelle selbst zugibt, noch nicht das Fehlen solcher Substanzen bewiesen; denn manche Beobachtungen sprechen dafür, dafs diese Stoffe sehr labiler Natur sind und sich entweder leicht verflüchtigen, oxydieren oder durch das Filter zurückgehalten werden.

Um den sicheren Nachweis, dafs tatsächlich Stoffwechselprodukte der Bakterien bei der Reduktionswirkung beteiligt sind, zu erbringen, müfsten diese Stoffe also erstens von den Keimen selbst völlig getrennt und zweitens sorgfältig vor

Luftzutritt bewahrt werden. Beide Bedingungen sind, wie ich glaube, bei folgendem Verfahren erfüllt, welches auf dem Gedanken beruht, daſs gelöste Stoffe im Gegensatz zu ungelösten Teilen oder Bakterien ziemlich rasch durch Gallerte hindurch diffundieren (vgl. Voigtländer) und so in eine darüber gegeschichtete, gegen Luftzutritt durch Paraffin geschützte Flüssigkeit hineingelangen können:

Der Boden eines gröſseren Erlenmeyer-Kolbens (1 l) wird mit einer ausreichenden Menge (80—100 ccm) Nähragars bedeckt; nach zweimaliger Sterilisation wird die abgekühlte, aber noch flüssige Agarschicht vorsichtig mit Bakterien beimpft, deren Verteilung mit Hilfe einer sterilen Pipette oder gröſseren Platinöse ohne Schütteln des Kolbens geschieht. Nach dem Erstarren der Masse wird darüber eine flache Schicht (50 ccm) sterilen und möglichst heiſsen Agars gegossen, die man ebenfalls fest werden läſst. Sie dient zur Trennung der Keime von der nunmehr darüber zu schichtenden, mäſsigen Flüssigkeitsmenge, die zur Vermeidung unnötiger Diffusionsvorgänge am besten aus einem Rest der zur Bereitung des Agars benutzten Nährlösung besteht und ihrerseits endlich mit Paraffin liquid. ziemlich hoch (5 cm) überschichtet wird. Der so vorbereitete, natürlich mit einem Wattepfropf verschlossene Kolben wird für 24—36 Stunden im Brutschrank gehalten und dann zur Untersuchung der Flüssigkeitsschicht auf reduzierende Stoffe herausgenommen. Um dabei den Zutritt der Luft zu verhüten, führt man einen zweimal rechtwinklig gebogenen, sterilisierten Saugheber, der am oberen Ende des längeren Schenkels oder an dem wagerechten Zwischenstück einen Glashahnverschluſs trägt, mit dem kürzeren Ende in die Paraffinschicht hinein und saugt nach Öffnen des Hahnes mit einem (vorher ausgekochten) Gummischlauch solange das Paraffin an, bis es durch die Heberwirkung von selbst zu flieſsen beginnt, worauf der Glashahn geschlossen wird. Nach Entfernung des Gummischlauches kann man dann, um völlig steril zu arbeiten, das untere, noch nicht mit Paraffin benetzte Ende des längeren Heberschenkels mit einer Bunsenflamme erhitzen. Taucht man nunmehr den kürzeren Schenkel in die unter dem Paraffin befindliche Flüssigkeitsschicht, so läſst sich diese nach Öffnen des Hahnes und nach Abtropfen der in der Röhre enthaltenen Paraffinmenge unter gleichzeitigem Zuleiten von Kohlensäure in ein bereit gehaltenes steriles Gefäſs absaugen. Um bestimmte und vergleichbare Mengen zu erhalten, benutze ich zum Auffangen kleine, geaichte Meſskolben (10—20 ccm), deren Halsstück etwas über das gewöhnliche Maſs hinaus verlängert und mit einem eingeschliffenen Glasstöpsel versehen ist. Hat man ein solches Gefäſs bis zur Marke gefüllt, so wird der Saugheber durch Senken des Kolbens aus diesem entfernt, der Kohlensäurestrom aber noch eine Zeitlang weiter eingeleitet, bis schlieſslich der Kolbenhals mit dem Glasstöpsel luftdicht verschlossen wird. Die zum Nachweis reduzierender Substanzen dienende sterile Methylenblaulösung kann entweder nach oder besser vor dem Einfüllen der zu prüfenden Flüssig-

keit in das Kölbchen gebracht werden. Manche der in dieser Weise angesetzten Versuche mifslingen natürlich deshalb, weil doch einige Keime in die Flüssigkeitsschicht gelangen, was jedesmal durch Einimpfen von 1 ccm der Lösung in Bouillon zu kontrollieren ist.

Meine Untersuchungen mit diesem Verfahren erstrecken sich bisher nur auf Bact. coli; als Nährlösung zur Bereitung des Agars und zur Überschichtung diente Bouillon oder häufiger eine von Capaldi und Proskauer angegebene Mischung, die folgende Zusammensetzung hatte:

Ammoniumphosphat	0,2	%
Mannit	0,2	»
Natriumchlorid	0,02	»
Magnesiumsulfat	0,01	»

Zur Kontrolle wurden in gleicher Weise beschickte, aber unbeimpfte Kolben in den Brutschrank gestellt. Es ist mir nun tatsächlich gelungen, in der keimfreien von Luft abgeschlossenen Flüssigkeit reduzierende Substanzen nachzuweisen, wenn, wie nachher festgestellt wurde, in der unteren Agarschicht reichlich Kolonien gewachsen waren; in allen anderen Fällen trat weder Entfärbung des Methylenblaus, noch überhaupt eine erkennbare Aufhellung ein. Natürlich war die Menge der reduzierenden Stoffe sehr gering; im günstigsten Falle wurden 5—7 Tropfen einer 0,02prozentigen Methylenblaulösung von 20 ccm Flüssigkeit (bei 37—40°) in etwa 10 Minuten entfärbt. Wurde beim Absaugen der Luftzutritt nicht verhindert, so war die Reduktionswirkung merklich schwächer, auch wenn noch nachträglich mit Kohlensäure überschichtet wurde.

Es darf somit als einwandfrei bewiesen angesehen werden, dafs bei der Reduktionswirkung der Bakterien auch ihre Stoffwechselprodukte beteiligt sind. Dieser letztere Ausdruck ist etwas unbestimmt und vieldeutig, weil darunter echte Sekrete (Fermente), Exkrete und Restbestandteile des Nährmaterials verstanden werden können; er ist aber wohl kaum zu entbehren, solange wir eben nicht wissen, welche dieser drei Arten für die Reduktionswirkung in Betracht kommen. Petri und Maassen haben die Vermutung aus-

gesprochen, dafs die sogenannte »Fernwirkung« der Bakterien auf Farbstoffe durch Schwefelwasserstoff hervorgerufen wird. In einem Falle habe ich die abgeheberte Flüssigkeit mit Natronlauge und Natriumnitroprussid auf Schwefelwasserstoff untersucht, diesen jedoch nicht nachweisen können. Immerhin ist es ja bekannt, dafs Methylenblau schon in der Kälte durch Schwefelwasserstoff reduziert wird.

Vielleicht werden uns aber mit der soeben beschriebenen Methode angestellte, systematische und auch auf andere Bakterien ausgedehnte Untersuchungen über Hemmung und Beschleunigung der Reduktion, über den Einflufs der Temperatur und über die chemische Zusammensetzung der fraglichen Lösung usw. weitere Aufklärung bringen. Es sei hier nur an die interessanten Untersuchungen Heffters über die Frage der reduzierenden Fermente im Tierkörper erinnert. Sollte es in unserem Falle gelingen, bestimmte reduzierende Gruppen aufzufinden, die etwa aus dem Nährboden in ähnlicher Weise frei gemacht sein könnten, wie der nach Rubners Annahme durch die Lebenseigenschaften des Bakterienprotoplasmas aus dem Eiweifs abgespaltene Schwefelwasserstoff, so ist es denkbar, dafs die bisherige Annahme einer Gleichsetzung der Reduktionsgröfse mit der Sauerstoffzehrung dadurch in Frage gestellt wird.

Das würde jedoch den Wert quantitativer Untersuchungen über die Reduktionsgröfse der Mikroorganismen, zu deren Betrachtung wir nunmehr zurückkehren, kaum herabsetzen. Im Gegenteil sind gerade durch Abänderung der mannigfaltigen dabei in Betracht kommenden Bedingungen für das Wachstum der Bakterien neue Aufschlüsse über ihre Stoffwechselvorgänge zu erwarten. In dieser Richtung habe ich mit Versuchen über den Einflufs verschiedener Nährböden begonnen. Vor allem erschien es sehr wünschenswert, dabei nur mit chemisch genau bekannten Körpern, also mit eiweifsfreien Lösungen zu arbeiten, wie sie beispielsweise Capaldi und Proskauer gerade für Bact. coli angegeben haben. Nach ihren Vorschriften habe ich eine grofse Zahl verschiedener Mischungen hergestellt, und sie auf ihre Brauchbarkeit für solche Zwecke geprüft. So-

lange kein Methylenblau zugegen war, erzielte ich ein ziemlich gutes Wachstum der Colibazillen, bei einem für Titrationszwecke gerade ausreichenden Farbstoffgehalt aber trat eine zu geringe Vermehrung (namentlich unter Sauerstoffabschlufs) und meist eine kaum erkennbare Aufhellung durch Reduktion auf. Ähnliche schlechte Erfahrungen scheint auch Carapelle mit einfachen Mineralnährböden gemacht zu haben.

Nach diesen Mifserfolgen ging ich dazu über, die Untersuchungen mit einer 1 prozentigen Lösung von Witte-Pepton, die einen Zusatz von 0,5 % Kochsalz erhielt, anzustellen. Dieser Nährboden allein genügte jedoch nicht, da ja unter anaeroben Bedingungen gearbeitet wurde, sondern es mufste ihm noch ein gewisser Gehalt an Traubenzucker (reinstes Kahlbaumsches Präparat) gegeben werden. Es lag deshalb nahe, gerade bei diesem notwendigen Zusatz Änderungen in der Konzentration vorzunehmen und ihren Einflufs auf die Reduktionsgröfse zu beobachten.

Einen positiven Erfolg konnte man sich von diesen Versuchen natürlich nur versprechen, wenn zunächst das Verhalten der Bakterien bei einem Überschufs (1 %) von Traubenzucker festgestellt und dann die Menge des Kohlehydrats auf das niedrigste, für diese Keime noch zulässige Mafs herabgesetzt wurde. Durch geeignete Vorversuche wurde diese untere Grenze für Bact. coli bei 0,03—0,04 ‰ Traubenzucker gefunden. Für den Typhusbazillus gelang es mir nicht, ein sicheres Mindestmafs in dieser Richtung festzustellen, und ich habe mich deshalb auf einen Versuch (25) mit Zusatz von 1 % Zucker beschränkt.

Die Versuchstabellen (XXVII—XXXI) geben ein ausreichendes Bild vom Verlauf dieser Untersuchungen, sodafs hier darüber hinweggegangen werden kann, zumal die bisher angewendete Methodik keinerlei Abänderung erfuhr. Es bedarf aber wohl der Erwähnung, dafs die Aussaatmengen absichtlich etwas hoch gewählt wurden. Dadurch wurden einerseits die Versuche auf nicht zu lange Zeit ausgedehnt; anderseits war ja im Gegensatz zu früher auf dem schlechteren Nährboden in den einzelnen Kölbchen

auch eine gröfsere Ungleichheit im Fortkommen der ausgesäten Keime zu befürchten, und ihr konnte durch eine gröfsere Aussaat am wirksamsten entgegengearbeitet werden.

Wie verhalten sich nun die unter so veränderten Ernährungsverhältnissen gewonnenen Werte für die Reduktionsgröfse?

Tabelle XXXII zeigt uns, dafs die für den Colibazillus festgestellten Zahlen (s. Stab 10) bei einem Traubenzuckergehalt bis zu 1 ‰ herab durchaus den früheren Befunden entsprechen und so geradezu als eine weitere Bestätigung für diese angesehen werden können. Um so bemerkenswerter ist es daher, dafs die beim Mindestmafs des Zuckergehalts festgestellten Gröfsen bedeutend niedriger sind, ja kaum ein Drittel der früheren Mittelwerte betragen und zudem noch eine recht gute Übereinstimmung untereinander aufweisen, wenn man beachtet, dafs die wenigen nach oben hin abweichenden Zahlen (Versuch 24) erst nach 14 bis 15 stündiger Versuchsdauer, also wahrscheinlich erst nach Beginn der Absterbeerscheinungen gewonnen wurden. Ganz dieselbe Erscheinung findet sich beim Typhusbazillus (siehe Tab. XXXIII), für dessen hohe Nahrungsansprüche die hier gewählten Versuchsbedingungen eine viel erheblichere Verschlechterung des Nährbodens bedeuteten, als für Bact. coli. Das Wachstum war infolgedessen wesentlich verlangsamt und erst nach 22—25 Stunden konnte eine merkliche Reduktionswirkung festgestellt werden; nimmt man nun an, dafs nach so langer Versuchsdauer eine Anzahl von Keimen wohl sicher schon ihre Fortpflanzungsfähigkeit eingebüfst hat, so sind die niedrigen, hier aufgestellten Werte für die Reduktionsgröfse sogar noch zu hoch veranschlagt.

Zur Erklärung dieser auffälligen Herabsetzung der Reduktionsgröfse kann man zunächst die veränderte Zusammensetzung des Nährbodens heranziehen. Kommt dieser aber wirklich eine so grofse Bedeutung in dieser Beziehung zu, so ist es nicht recht verständlich, warum sich nicht auch schon in

1 prozentiger Zuckerlösung[1]) für Bact. coli andere Werte, als in der an Nährstoffen viel reicheren Bouillon, ergeben haben. Es bleibt dann nur die Vermutung übrig, dafs die Konzentrationsänderung des Traubenzuckers allein solche Unterschiede in der Reduktionsgröfse bedingt, aber das auch nur bis zu einer gewissen oberen Grenze, die wir einstweilen bei einem Zuckergehalt von etwa 1‰ (Versuch 22) festlegen könnten. Damit würde es ja im Einklang stehen, dafs in Versuch 23 mit steigender Konzentration von 0,03 auf 0,04‰ offenbar eine Zunahme der Reduktionsgröfse erfolgte. Auch die oben schon erwähnten Untersuchungen Cramers könnten diese Annahme bekräftigen, weil er mit steigendem Stickstoffgehalt (Pepton) des Nährbodens eine Anreicherung des Eiweifsgehaltes im Bakterienleib bis zu einem bestimmten Punkte feststellte.

Dadurch werden wir zu der wichtigen Frage gedrängt, ob etwa der aus dem Nährboden frei gemachte Sauerstoff vorwiegend zum Aufbau der Bakterien dient und daher bei den hier gegebenen ungleichen Ernährungsverhältnissen von derselben Zahl der Keime in der gleichen Zeiteinheit verschiedene Mengen von Sauerstoff verbraucht wurden. Rubner hat zuerst darauf hingewiesen, dafs wir bei solchen Untersuchungen zwischen dem Anteil der Stoffe, der während des Wachstums in den Bestand der neuen Zellen übergeht (= Ansatz), und dem durch Stoffwechsel verbrauchten (= Umsatz) wohl unterscheiden müssen, und er hat für eine Reihe von Spaltpilzen zeigen können, dafs der auf Umsatz beruhende Energieverlust weit gröfser ist, als der durch den Ansatz und das Wachstum bedingte. Weiterhin hat Hesse, der u. a. auch das Verhalten des Typhusbazillus untersuchte, in der Zeit des lebhaften Bakterienwachstums nicht die der aufgenommenen Sauerstoffmenge entsprechende Menge von Kohlensäure wieder gefunden, sondern erheblich weniger. »Die Menge des zurückgehaltenen Sauerstoffs — so schreibt er weiter — ist zur Zeit des leb-

1) In Versuch 21 und 25 wurde aqua dest. bei Bereitung der Peptonlösung verwendet, in den anderen Fällen Leitungswasser. — Die Bouillon enthielt stets einen Zusatz von 1% Pepton (Witte) und 0,5% Kochsalz.

haftesten Bakterienwachstums am gröfsten. Der in Verlust gegangene Sauerstoff ist vorwiegend zum Bakterienaufbau oder zur Herstellung anderer Stoffwechselprodukte verwendet worden.«

Wir haben bei unseren Untersuchungen durch Bestimmung der Reduktionsgröfse nur die Gesamtmengen des aus dem Nährboden freigemachten Sauerstoffs festgestellt, und ein Vergleich zwischen der zum Ansatz verwendeten Menge und der im Stoffwechsel verbrauchten erscheint daher unmöglich. Dennoch lassen unsere Versuchsergebnisse — selbstverständlich mit gröfstem Vorbehalt — gewisse Schlüsse zu, wie folgende Überlegung zeigt:

Ist nämlich, wie wir nach den Befunden auf verschiedenen Nährböden vielleicht annehmen könnten, in unseren Kulturen der Sauerstoff-Ansatz erheblich gröfser gewesen, als der Umsatz, so wird die Menge der neu entstehenden Keime bei dem Sauerstoffverbrauch für die Reduktionsgröfse fast allein den Ausschlag geben, und letztere wird also ziemlich unabhängig von der Versuchsdauer mit der Zahl der Generationen beträchtlich zunehmen müssen. Die Zahl der Generationen ist daher in allen Übersichtstabellen (XXII—XXV, XXXII und XXXIII) neben der Generationsdauer aufgeführt. — Kehren wir dagegen unsere Voraussetzung um, und nehmen wir also den Umsatz an Sauerstoff bedeutend höher an, als den Ansatz, so wird die Zahl der Generationen zwar auch eine gewisse Rolle bei dem Gesamtverbrauch spielen, weil eben ein kleiner Teil des Sauerstoffs zum Aufbau der Bakterienleiber verwendet wird; aber die verhältnismäfsig gröfsere Menge, die ein jeder Keim gleichmäfsig während der ganzen Versuchsdauer im Stoffwechsel verbraucht, mufs es bewirken, dafs wir bei Berechnung der Reduktionsgröfse (auf eine bestimmte Keimzahl und Zeiteinheit) fast konstante Werte erhalten. Das Ansteigen der Werte wird also durch die Gröfse des Ansatzes bedingt. Ein bestimmtes Mafs, wie rasch das Ansteigen der Werte im Vergleich zur Zahl der Generationen erfolgen darf, wenn Ansatz und Umsatz in einem bestimmten Falle gleich sind, haben wir natürlich nicht. Rubner hat früher festgestellt, dafs die zum Stoffwechsel unserer Bakterien verwendete Menge (Umsatz)

Stickstoff größer ist, als die beim Aufbau der Leibessubstanz verbrauchte (Ansatz). Nimmt man für den Sauerstoffverbrauch die gleichen Verhältnisse an, so dürfen wir die gefundenen Unterschiede zwischen den einzelnen Werten der Reduktionsgröße als gering annehmen, was mir nicht unwahrscheinlich erscheint. Es ist aber nunmehr auch verständlich, daß wir selbst bei einem im Vergleich zum Umsatz recht geringen Ansatz von Sauerstoff keine völlig konstanten, sondern stets ansteigende Werte erhalten müssen und deshalb für die Reduktionsgröße nur in gewissen Grenzen sog. »Mittelwerte« angeben können. Wenn unsere in der Hauptwachstumsperiode gewonnenen Werte eine fast gleichmäßige Zunahme mit der steigenden Erntemenge aufweisen, so bürgt das also gerade umsomehr für ihre Richtigkeit.

Über das zahlenmäßige Verhältnis der beiden Sauerstoffmengen zu einander lassen sich demnach keine Angaben machen; dagegen liegt wenigstens die Möglichkeit eines Vergleichs des Bact. coli und typhi nach dieser Richtung hin vor. Nehmen wir nämlich an, daß bei dem einen der Sauerstoffumsatz im Verhältnis zum Ansatz größer ist als bei dem anderen, so werden wir im Hinblick auf obige Betrachtungen bei dem ersteren eine bessere Gleichmäßigkeit der Werte für die Reduktionsgröße erwarten können, als bei dem zweiten. Nach Tabelle XXVI gewinnt man fast den Eindruck, als ob tatsächlich diese Werte für Typhus eine etwas bessere Übereinstimmung zeigen als für Coli[1]). Demnach würde der Typhusbazillus einen verhältnismäßig größeren Sauerstoff-Umsatz haben, als Bact. coli, das seinerseits mehr zum Sauerstoff-Ansatz befähigt wäre. Wenn diese Vermutung durch weitere Untersuchungen gestützt werden könnte, so würde sie eine Bestätigung folgender,

1) Trägt man in ein Koordinatensystem, auf dessen Abszisse die Zahl der Generationen, auf dessen Ordinate die Werte für die Reduktionsgröße abgetragen sind, die entsprechenden Zahlen für beide Bakterien ein, so müssen die entstehenden Kurven (Geraden?) bei Koli steiler ansteigen, als bei Typhus. Der Unterschied zwischen zwei Bakterien in ihrer Ansatz- und Umsatzfähigkeit läßt sich auf diese Weise graphisch sehr deutlich zum Ausdruck bringen.

aus der vorerwähnten Arbeit Rubners (S. 219) entnommenen Sätze sein: »Das Bact. coli ist dem Typhus an Wachstumskraft, d. h. an Ansatzfähigkeit überlegen gewesen und bildete offenbar auch leicht Reserve-Nährstoffe, wie aus der Zahl für das Verhältnis zwischen N und Kalorien im Ansatz hervorzugehen scheint. An Umsatzfähigkeit, also Zerstörungskraft, leistet aber der Typhus relativ mehr, als Bact. coli. Die gröfsere Vermehrungskraft sichert aber letzterem in Konkurrenz mit Typhus die Oberhand«. — Diesen Eigenschaften beider Bakterien entspricht es auch, dafs bei Coli die Generationsdauer kürzer und die Wachstumskurve steiler ist als beim Typhusbazillus.

Trägt man nun bei graphischer Darstellung dieser Verhältnisse den Anfangspunkt der Reduktions- (= Null) und Wachstumskurve (= Aussaat) auf ein Koordinatensystem in gleicher Höhe auf und entsprechend die beiden Maximalwerte (vor Beginn der Absterbe-Erscheinung) ebenfalls, so mufs die Reduktionskurve, je gröfser der Ansatz im Vergleich zum Umsatz ist, umso gleichmäfsiger mit der Wachstumskurve ansteigen und schliefslich beinahe mit ihr zusammenfallen. Anderseits wird die Reduktionskurve umso deutlicher »nachschleppen«, je mehr sich dieses Verhältnis von Ansatz zu Umsatz umkehrt, weil ja das Entstehen immer der Stoffwechseltätigkeit der neuen Generationen vorausgeht. Bei Bact. coli, das nach Rubner eine ziemlich hohe Ansatzfähigkeit hat, wird man erwarten müssen, dafs sich die Reduktionskurve ziemlich eng an die Wachstumskurve anschmiegt; bei Bact. typhi dagegen, dessen Umsatz im Vergleich zu Coli gröfser und dessen Ansatz entsprechend geringer ist, mufs die Wachstumskurve schneller den Gipfel erreichen, als die Reduktionskurve. Es ist daher wohl kein Zufall, dafs diese verschiedene Beziehung der beiden Kurven zu einander in unseren, früher für beide Bakterien gefundenen Kurven (siehe Kurventafel I und II) sehr deutlich zum Ausdruck gelangt[1]).

1) Auch die Erscheinung, dafs sich beim Typhus während des anfänglich geringen Wachstums die Reduktionskurve mehr erhebt, als bei Bact. coli,

Unsere soeben angestellten Erwägungen über die Art der Verwendung des aus dem Nährboden frei gemachten Sauerstoffs waren dadurch veranlafst worden, dafs wir eine Herabsetzung der Reduktionsgröfse des Bact. coli in einem Nährboden, der unter 1‰ Traubenzucker enthielt, festgestellt hatten; fassen wir diese Tatsache von neuem ins Auge, so haben wir dafür bisher noch keine genügende Erklärung gefunden. Ein Vergleich der Reduktionsgröfse mit der Zahl der Generationen (Tabelle XXXII) zeigt uns zunächst, dafs eine wesentliche Verschiebung des Verhältnisses zwischen Sauerstoff-Umsatz und -Ansatz gegenüber den anderen Versuchen nicht stattgefunden haben kann. Wir sind also zu der Annahme gezwungen, dafs das Verhältnis zwischen Umsatz und Ansatz zwar gleich geblieben, der Gesamtverbrauch an Sauerstoff aber unter einer gewissen Grenze des im Nährboden vorhandenen Zuckergehalts wesentlich geringer geworden ist, — wenn diese Erscheinung nicht nur durch einen Versuchsfehler vorgetäuscht wird.

Tatsächlich lassen sich aber zwei Fehlerquellen dafür auffinden, die uns eine ausreichende Erklärung geben. Werfen wir nämlich noch einmal einen Blick auf die Versuche, bei denen Bouillon als Nährboden benutzt wurde, so finden wir in den zugehörigen Übersichtstabellen (XXII—XXV) fast regelmäfsig für die Reduktionsgrösse einige weit unter den »Mittelwerten« gelegene Zahlen, die im Interesse der Darstellung bisher mit Stillschweigen übergangen worden sind. Diese niedrigen Werte fallen ausnahmslos in den Beginn der Versuche, meist sogar in die Zeit vor dem plötzlichen Anstieg der Wachstumskurve; hat erst einmal eine lebhafte Vermehrung begonnen, so schnellen sie zunächst in die Höhe und werden darauf konstanter. Beachten wir nun daneben die Menge reduzierten Methylenblaus, so handelt es sich ja im Anfang um äufserst kleine Zahlen, und es ist daher begreiflich, dafs jede Ungenauigkeit in der Titration hier im Vergleich zu späteren Zeiten des Versuchs

scheint mir darauf zu beruhen, dafs der Sauerstoffumsatz bei Typhus gröfser ist. Die Reduktionskurve des Typhus steigt eben vom Wachstum unabhängiger auf, als die des Bact. coli.

unverhältnismäfsig viel gröfsere Fehler verursacht. Nach den früheren und an anderer Stelle gepflogenen Erörterungen ist aber eine Übertitration der unveränderten Farbstoffmenge und daher eine Unterschätzung der reduzierten viel wahrscheinlicher als das Gegenteil. Die für die Reduktionsgröfse gefundenen Werte werden also im Anfang der Versuche häufig zu klein ausfallen.

Immerhin wird aber dadurch allein in einer längeren Versuchsreihe, wie sie hier vorliegt, und bei einiger Übung, schwerlich eine so merkliche und regelmäfsige Herabminderung der Reduktionsgröfse im Anfang jeden Versuches hervorgerufen werden, wie sie unsere Tabellen aufweisen. Daran trägt eben eine zweite und wichtigere Fehlerquelle die Schuld; sie beruht auf dem in der Nährlösung am Beginn der Versuche noch vorhandenen freien Sauerstoff (s. Wolff). Denn dieser steht anfangs einerseits den Bakterien noch für den Stoffverbrauch zur Verfügung, andererseits wird er die ersten reduzierten Mengen des Farbstoffs reoxydieren können und so in doppelter Weise gerade die am Anfang gewonnenen Werte der Reduktionsgröfse zu gering erscheinen lassen.

Erhitzt man die Nährlösung kurz vor Gebrauch im Dampfsterilisator, wie Wolff es schon empfohlen hatte und läfst die Kolben, ohne sie zu schütteln oder sie viel zu bewegen, gerade so lange, wie bis zur Beimpfung nötig ist, abkühlen, so diffundiert wahrscheinlich nur eine ziemlich geringe Menge Sauerstoffs in die Flüssigkeit hinein und wird hier teilweise noch zur Reoxydation des beim Erhitzen gebildeten Leukomethylenblaus verbraucht. Kedrowski teilt mit, dafs seine 20—30 Minuten im Dampfapparat erhitzte und dann nach 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassene Bouillon (mit $1\frac{1}{2}\%$ Zuckergehalt) einen geeigneten Nährboden für Anaerobiose abgab. »Offenbar geht — so schreibt er — die Absorption von Sauerstoff in den Probiergläschen so langsam vor sich, dafs nicht einmal 24 Stunden genügen, damit die flüssige Nährsubstanz ganz davon gesättigt werde.« — Einige weitere, damit übereinstimmende An-

gaben finden sich in einer kürzlich veröffentlichten Arbeit Meyers über Aerobiose und Anaerobiose.

Trotzdem und ungeachtet aller angewendeten Vorsichtsmaſsregeln ist zweifellos die in unseren Versuchen in Frage kommende Menge freien Sauerstoffs schon so groſs gewesen, daſs sie die Anfangsziffern für die Reduktionsgröſse erheblich herabdrücken konnte. Erst nach Ausgleich dieses Fehlers trat ein schnelles Ansteigen und dann eine gröſsere Gleichmäſsigkeit der Zahlenwerte ein. So lange eben die absolute Menge der Bakterien zu gering blieb, um diesen Einfluſs des freien Sauerstoffs einigermaſsen auszuschalten, blieb auch der Wert der Reduktionsgröſse gering. Das trifft nun im allgemeinen auf alle unsere Anfangswerte, ganz besonders aber auf die Zahlen aus den mit Peptonwasser angestellten Versuchen 23 und 24 zu. Es liegt hier also gar keine Ausnahme vor und die scheinbare Beeinflussung des Bakterienstoffwechsels durch die Veränderung des Nährbodens beruht wahrscheinlich nur auf diesem Versuchsfehler. Mit dieser Erklärung ist es auch vereinbar, daſs in Versuch 23 die Reduktionswerte allmählich mit zunehmendem Zuckergehalt ansteigen, weil ja die Erschöpfung des Nährbodens, d. h. der Verbrauch der zum Wachstum notwendigen Kohlehydratmenge, länger hinausgeschoben war und die Ernteziffern daher dementsprechend gröſser wurden.

Es soll damit nicht ganz in Abrede gestellt werden, daſs eine Änderung des Sauerstoffverbrauchs der Bakterien unter verschiedenen Ernährungsbedingungen stattfinden kann; jedenfalls sind aber die vorliegenden Versuchsergebnisse über das Bact. coli wegen der nachgewiesenen Fehlerquellen nicht in diesem Sinne verwertbar. Um so wichtiger könnten daher die für Bact. typhi in dem Peptonversuch (25) gefundenen Reduktionswerte erscheinen, weil die zugehörigen Zahlen der geernteten Keime etwa dieselbe Höhe erreichten, wie in den Bouillon-Versuchen. Nach unseren früheren Erfahrungen müſsten also diese Bakterienmengen zum Ausgleich des durch den absorbierten Sauerstoff verursachten Fehlers vollständig genügen; trotzdem blieben die Werte der Reduktionsgröſse deutlich hinter den früheren zurück.

Das schon besprochene »Nachschleppen« der Reduktionskurve hinter der Wachstumskurve kann dafür wohl nicht allein verantwortlich gemacht werden.

Und doch ist auch beim Typhus diese Stoffwechseländerung wohl nur scheinbar; denn wir haben es hier mit einer weiteren Fehlerquelle zu tun, die schon auf S. 15 kurze Erwähnung gefunden hat: Das Paraffin schliefst den Sauerstoff, obgleich es selbst stets durch Kochen davon befreit worden war, nicht vollkommen von der Kultur ab; er diffundiert vielmehr ganz allmählich durch die ziemlich hohe Schicht hindurch und reoxydiert die gebildete Leukobase. Geht das Wachstum und damit die Reduktion sehr schnell vor sich, wie es ja in der Bouillon regelmäfsig während der dreistündigen Hauptwachstumsperiode geschah, so kann die schädliche Wirkung dieser Erscheinung vernachläfsigt werden, zumal ihr die Diffusion der Leukobase in das Paraffin (vgl. S. 10) teilweise entgegenwirkt. Zieht sich die Versuchsdauer aber über 25—28 Stunden hin, wie in Versuch 25, so wird das Paraffin mit Sauerstoff gesättigt, und dieser übt dann auf die Versuchsergebnisse einen störenden Einflufs aus.

Um es an einem Beispiel zu erläutern, wurde in Versuch 21 ein Kölbchen, in dem die Coli-Kultur nach 14 Stunden das gesamte Methylenblau bis auf geringe Spuren (schätzungsweise höchstens 1 dmg) reduziert hatte, weiter im Brutschrank stehen gelassen. Nach 23 Stunden, also 9 Stunden später, war wieder eine deutlich erkennbare Blaufärbung der Kultur aufgetreten, und die Titration ergab, dafs etwa 5,84 dmg Methylenblau darin vorhanden waren. Infolgedessen fiel bei der Berechnung die Reduktionsgröfse trotz sichtbar reichlicher Absterbe-Erscheinungen (Bodensatz) sehr klein (18 millionstel Milligramm) aus. Diese Beobachtung macht es uns verständlich, dafs bei dem in der Peptonlösung stark verzögerten Wachstum des Typhus die Reduktionswerte geringer wurden, als sonst, und somit ist das Auftreten einer Stoffwechseländerung auch in diesem Falle mindestens recht zweifelhaft geworden. Denn die hier gefundenen Zahlen für die Reduktionsgröfse sind bei Vorhandensein einer

solchen Fehlerquelle, wie wir sie soeben nachgewiesen haben, mit der Höhe der früher für Typhus festgestellten Mittelwerte durchaus vereinbar.

Diese letzteren dürften also, nachdem wir jetzt nicht nur für die zu hohen Ziffern am Ende der Versuche, sondern auch für die zu niedrigen am Anfang eine ausreichende Erklärung gefunden haben, in ihrer Richtigkeit aufs neue bestätigt sein. Wir sind uns aber zugleich, wie noch einmal wiederholt sein mag, darüber klar geworden, daſs die geringere oder gröſsere Gleichmäſsigkeit der in der Mitte liegenden Werte von dem Verhältnis der zum Umsatz und Ansatz verbrauchten Sauerstoffmenge abhängig ist, und daſs, solange dabei der Ansatz nicht verschwindend klein ist, mit der zunehmenden Bakterienmenge auch ein allmählicher Anstieg der Zahlen für die Reduktionsgröſse stattfinden muſs.

Weiteren Untersuchungen wird die Entscheidung darüber vorbehalten bleiben müssen, ob die vorsichtigen Schlüsse, die wir auf Grund dieser Erkenntnis aus den vorstehenden Versuchen gezogen haben, sich bewahrheiten. Zu ihrer Bestätigung würden quantitative Gasmessungen beim Stoffwechsel der Bakterien nach dem Vorbild der Arbeiten Hesses von gröſstem Wert sein, wenn damit genaue Aussaat- und Erntebestimmungen verbunden würden. Durch einen Vergleich der gewonnenen Ergebnisse mit denen ähnlicher Untersuchungen, wie sie hier für eine einzelne Bakteriengruppe und in kleinem Maſsstabe durchzuführen versucht wurden, dürfen wir hoffen, auf dem Gebiete biologischer Forschung einen Schritt vorwärts zu tun.

Zusammenfassung.

I. Zu vergleichenden Untersuchungen über die Reduktionswirkung der Bakterien eignet sich von den reduzierbaren Farbstoffen das Methylenblau am besten. Es verursacht für das Wachstum der Typhus- und Colibazillen eine mit steigender Konzentration zunehmende Verzögerung, die aber bei beiden Bakterien in gleichem Maſse stattfindet.

II. Mit einem früher (s. Litt.) veröffentlichten Verfahren wurden quantitive Untersuchungen über die Reduktionswirkung der Typhus-Coli-Gruppe auf Methylenblau (in Bouillon) ausgeführt und dazu 3 Typhus-, 2 Colistämme und je 1 Paratyphusstamm vom Typus A und B verwendet. Die Menge der Keime wurde mit dem Zählplattenverfahren ermittelt.

Die Versuchsergebnisse waren:

1. In frischen und rege wachsenden Kulturen besteht ein Zusammenhang zwischen Reduktionswirkung und Vermehrungstätigkeit, die sich in dem gleichartigen Verlauf der Wachstums- und Reduktionskurve ausspricht.
2. Als zahlenmäßiger Ausdruck für die »Reduktionsgröße« wurde die von 1000 Keimen in 1 Stunde reduzierte Menge des Methylenblaus angenommen. Dieser Wert beträgt für die Typhus-Coli-Gruppe durchschnittlich 28—30 millionstel Milligramm.

   Die »Mittelwerte« für Bact. coli liegen etwas höher, die für Typhus etwas niedriger und endlich für B. paratyphi B (und A?) in der Mitte zwischen beiden.
3. Für die weit niedrigeren Werte am Anfang und die weit höheren am Ende der Versuche konnten Fehlerquellen zur Erklärung nachgewiesen werden.
4. Durch vergleichende Zählung der auf den Platten auswachsenden und der nicht mehr fortpflanzungsfähigen Keime (Zählkammermethode) wurden für die Reduktionsgröße »Maximalwerte« gefunden. Für Coli beträgt der Maximalwert etwa 43, für Typhus unter 39 millionstel mgr.
5. Reduktionsgröße und Generationsdauer des Bact. coli und typhi stehen annähernd im umgekehrten Verhältnis zu einander.
6. Die Untersuchung der Reduktionswirkung bei Züchtung der Bakterien auf eiweißfreien Nährböden mißlang wegen des zu geringen Wachstums bei Gegenwart von Methylenblau.

7. Die gegenüber den Bouillonversuchen gefundene Herabsetzung der Reduktionsgröfse bei Verwendung von Traubenzuckerpeptonlösung als Nährboden wurde wahrscheinlich durch Versuchsfehler vorgetäuscht.
8. Bei Gleichsetzung der Reduktionsgröfse mit der Sauerstoffzehrung, d. h. mit der dem reduzierten Methylenblau entsprechenden Menge des aus dem Nährboden frei gemachten Sauerstoffs, ergab sich aus den gefundenen Werten mit einiger Wahrscheinlichkeit, dafs
   a) bei B. typhi der Umsatz an Sauerstoff im Verhältniss zum Ansatz gröfser ist, als bei B. coli und daher:
   b) bei graphischer Darstellung dieser Verhältnisse die Wachstums- und Reduktionskurven des B. coli näher zusammenfallen und steiler ansteigen, als die des B. typhi, dessen Reduktionskurve hinter der Wachstumskurve »nachschleppt«.

III. Es konnte ein neues Verfahren angegeben werden, um sehr labile (leicht oxydable) »Stoffwechselprodukte« der Bakterien von diesen selbst zu trennen und einer Untersuchung zugänglich zu machen. Dadurch konnte (zunächst) für Bact. coli einwandsfrei nachgewiesen werden, dafs Stoffwechselprodukte bei der Reduktionswirkung (auf Farbstoffe) beteiligt sind.

Literatur.

1. Baginsky, Deutsche med. Wochenschr. 1888, S. 391.
2. Behring, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 6, S. 361.
3. » Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 7, S. 171.
4. Berghaus, Archiv f. Hygiene, Bd. 64, S. 1.
5. Buchner, Archiv f. Hygiene, Bd. 3, S. 361.
6. Burchard, Archiv f. Hygiene, Bd. 36, S. 264.
7. Cache, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 40, S. 256.
8. Cahen, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 2, S. 386.
9. Capaldi und Proskauer, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 23, S. 452.
10. Carapelle, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 47, S. 545.
11. Cassedebat, Annal. Pasteur 1890, S. 625.
12. Cathcart und Hahn, Archiv f. Hygiene, Bd. 44, S. 295.
13. Conradi und Drigalski, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 39, S. 283.
14. Cramer, Archiv f. Hygiene Bd. 13, S. 70.
15. » Archiv f. Hygiene, Bd. 16, S. 150.
16. » Archiv f. Hygiene, Bd. 22, S. 167.
17. Deutsch, XIII. Congrès internation. d. médicine, Paris 1900, Sect. de Bact., S. 184.
18. Dieudonne, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 11, S. 508.
19. Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis d. Organismus. Berlin (Hirschwald) 1885.
20. Elsner, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 21, S. 25.
21. Endo, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 35, S. 109.
22. Fregonneau, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 49, S. 276.
23. Germano und Maurea, Zieglers Beitr., Bd. 12, S. 494.
24. Goldberger siehe Rambousek.
25. Gottschlich in Flügge »Mikroorganismen«, Bd. I, 1896.
26. Haacke, Archiv f. Hygiene, Bd. 42, S. 47.
27. Heffter, Mediz.-naturwiss. Archiv, Bd. I, S. 81.
28. » Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Suppl.-Bd. 1908 (Schmiedeberg-Festschr.).
29. Hehewerth, Archiv f. Hygiene, Bd. 39, S. 321.
30. Helmholtz, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1843.
31. Hesse, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 15, S. 17 u. 183.
32. Hesse und Niedner, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 53, S. 259.
33. Holz, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 8, S. 143.
34. Kedrowski, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 20, S. 358.
35. Kindborg E. und A., Zentralbl. f. Bakt., Bd. 46, S. 554.
36. Klein, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 27, S. 834.
37. Klett, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 33. S. 137.
38. Knecht und Hibbert, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 38, S. 3318.
39. » » » Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 40, S. 3819.

40. Liborius, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 1, S. 115.
41. Löffler, Deutsche med. Wochenschr. 1903, Vereinsbeil.
42. Lösener, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 9, S. 206.
43. Lunkewicz, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 16. S. 945.
44. Meyer, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 49, S. 305.
45. Michaelis, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 29, S. 763.
46. Fr. Müller, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 26, S. 51.
47. » Zentralbl. f. Bakt., Bd. 26, S. 801.
48. M. Müller, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 20, S. 245.
49. » Archiv f. Hygiene, Bd. 47, S. 127.
50. P. Th. Müller, Archiv f. Hygiene, Bd. 56, S. 108.
51. Neifser, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 20, S. 119.
52. » und Wechsberg, Münch. med. Wochenschr. 1900, S. 1261.
53. Petri und Maassen, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 8, S. 318.
54. Petruschky, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 6, S. 657.
55. Pöhl, Ber. d. d. chem. Ges. 1886 I, S. 1159.
56. Rambousek, Archiv f. Hygiene, Bd. 38, S. 382.
57. Roth, Hygien. Rundschau 1903, S. 489.
58. Rothberger, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 24, S. 513.
59. » Zentralbl. f. Bakt., Bd. 25, S. 69.
60. Rubner, Archiv f. Hygiene, Bd. 16, S. 53.
61. » Archiv f. Hygiene, Bd. 48, S. 260.
62. » Archiv f. Hygiene, Bd. 57, S. 193.
63. Scheffler, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 28, S. 199.
64. Seligmann, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 52, S. 161.
65. Smidt, Archiv f. Hygiene, Bd. 52, S. 313.
66. Smith, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 181.
67. Spina, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 2, S. 71.
68. v. Sommaruga, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 12. S. 273.
69. Trommsdorff, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 49, S. 291.
70. Voigtländer, Zeitschr. f. physikal. Chemie, Bd. 3, S. 216.
71. Wichern, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 57, S. 365.
72. Winterberg, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 29, S. 75.
73. Wolff, Baumgartens Arbeiten a. d. path. Inst. Tübingen III, S. 294.

Tabelle I. Versuch 1.

Bact. coli.

Stamm S. 12stünd. Kultur.
(Nährboden Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 100,25 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 11 ccm) = 9,52 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 28 730 Kolonien.
» 2: 22 626 »
» 3: 29 679 »
Durchschnitt: 27 012 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Verbrauchte ccm $TiCl_3$-Lösung I	II	Durchschn. Menge des reduz. Methylenblaus in dcmg	Kolonienzahl der Platten I	II	III	Durchschnittl. Keimzahl in 11 ccm
2	3,0	2,975	0	8	9	9	99 990
4	2,975	3,0	0	52	56	66	644 370
6	2,925	2,90	0,28	535	529	550	5 977 100
8	2,65	2,60	1,19	24 342	21 744	16 227	230 750 000
10	1,80	1,65	4,06	55 150	47 200	50 690	566 720 000
11	0,975	1,25	5,99	95 970	81 060	66 850	903 110 000
12	0,45	0,45	8,09	97 020	126 830	118 370	1 267 700 000
13	0,075	0,05	9,33	122 460	147 910	126 910	1 471 000 000
14	0	0	9,52	—	—	—	—

Tabelle II. Versuch 2.

Bact. coli.

Stamm S. 11stünd. Kultur.
(Nährboden Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 105,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 10 ccm) = 7,50 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 4 110 Kolonien.
» 2: 6 250 »
» 3: 7 684 »
Durchschnitt: 6 014 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Verbrauchte ccm $TiCl_3$-Lösung I	II	Durchschn. Menge des reduz. Methylenblaus in dcmg	Kolonienzahl der Platten I	II	III	Durchschnittl. Keimzahl in 10 ccm
2	2,50	2,50	0	—	—	—	—
4	2,50	2,50	0	29	21	24	242 400
6	2,475	2,45	0,08	943	958	998	2 756 600
7	2,40	2,40	0,26	4 036	4 006	3 992	40 511 100
8	2,35	2,35	0,42	18 293	13 850	17 686	167 750 900
9	1,5	1,0	1,09	—	—	—	—
10	0,125	0,125	3,73	132 969	137 499	151 690	1 421 261 900
10½	0	0	7,50	151 340	155 000	159 960	1 569 883 400

Tabelle III. Versuch 3.

Bact. typhi.

Stamm B. 10stünd. Kultur.

Titer:
0,01 g Fe = 100,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 10 ccm) = 9,55 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 6 171 Kolonien.
› 2: 4 779 ›
Durchschnitt: 5 475 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Verbrauchte ccm $TiCl_3$-Lösung I	II	Durchschn. Menge des reduz. Methylenblaus in dcmg	Kolonienzahl der Platten I	II	III	Durchschnittl. Keimzahl in 10 ccm
4	3,025	2,975	0	—	—	—	—
6	3,20	3,0	0	135	106	127	1 243 300
8	2,975	2,95	0,12	1 160	1 090	1 390	12 251 300
9	2,875	2,90	0,36	—	—	—	—
11	2,50	2,50	1,59	31 840	—	—	321 584 000
12	1,80	1,95	3,58	34 418	31 558	35 514	341 683 000
13½	1,25	1,25	5,57	52 584	40 680	—	470 983 200
14½	0,80	0,75	7,08	23 064	19 351	30 162	244 339 200
16	0,65	0,65?	7,48	34 752	42 258	33 134	336 814 800

Tabelle IV. Versuch 4.

Bact. typhi.

Stamm B. 11stünd. Kultur.

(Nährboden Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 84,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 10 ccm) = 9,47 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 2 052 Kolonien.
› 2: 2 718 ›
› 3: 1 680 ›
Durchschnitt: 2 150 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Verbrauchte ccm $TiCl_3$-Lösung I	II	Durchschn. Menge des reduz. Methylenblaus in dcmg	Keimzahl in 10 ccm, berechnet von Platte I	II	III	Durchschnittl. Keimzahl in 10 ccm
7½	2,5	2,5	0	1 272 600	1 323 100	1 242 300	1 279 300
9½	2,3	2,35	0,66	7 564 900	6 807 400	7 867 900	7 413 100
11	2,35	2,25	0,95	46 177 200	41 995 800	38 410 300	42 194 400
13	2,1	2,15	1,42	151 870 000	160 650 000	150 650 000	154 390 000
14½	1,8	1,9	2,46	152 160 000	211 230 000	196 590 000	186 660 000
15½	1,5	1,75	3,31	111 340 000	111 240 000	133 560 000	118 710 000?
16½	1,5	1,4	3,98	170 240 000	171 390 000	159 980 000	167 200 000
18	1,35	1,35	4,86	136 720 000	134 870 000	159 440 000	143 340 000

Tabelle V. Versuch 5.

Bact. typhi.

Stamm K. 11stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:

0,01 g Fe = 84,0 ccm.

Anfängl. Menge Methylenblau (in 10 ccm) = 9,47 dcmg.

Gröfse der Aussaat:

Platte 1: 1404 Kolonien.

» 2: 1413 »

» 3: 1627 »

Durchschnitt: 1481 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Verbrauchte ccm $TiCl_3$-Lösung I	II	Durchschn. Menge des reduz. Methylenblaus in dcmg	Keimzahl in 10 ccm, berechnet von Platte I	II	III	Durchschn. Keimzahl in 10 ccm
7½	2,5	2,5	0	525 200	666 600	474 700	555 500
9½	2,45	2,35	0,38	3 959 200	4 514 700	4 700 600	4 391 500
11	2,3	2,3	0,73	24 058 200	20 997 900	22 674 600	22 576 900
13	2,15	2,15	1,33	169 430 000	175 580 000	194 680 000	179 890 000
14½	1,90	1,95	2,18	172 370 000	193 310 000	176 640 000	180 770 000
16½	1,90	1,80	2,46	155 810 000	175 330 000	174 670 000	168 600 000
18	1,85	1,85	2,46	201 140 000	178 470 000	185 490 000	188 370 000

Tabelle VI. Versuch 6.

Bact. coli.

(Nährboden: Bouillon.)

Gröfse der Aussaat:

Stamm B.:

Platte 1: 26 933 Kolonien.
» 2: 31 372 »
Durchschnitt: 29 102 Keime.

Stamm S.:

Platte 1: 2 531 Kolonien.
» 2: 2 655 »
» 3: 2 484 »
Durchschnitt: 2 557 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Methylenblauzusatz	Stamm B. Keimzahl auf 50 ccm bezogen, in Tausenden: berechnet aus Platte I	Stamm B.: berechnet aus Platte II	Stamm B.: Durchschnitt	Stamm S.: berechnet aus Platte I	Stamm S.: berechnet aus Platte II	Stamm S.: Durchschnitt
8	0	4 257 700	4 296 500	4 277 100	2 964 000	3 166 200	3 065 100
	0,05 ‰	2 756 500	2 192 200	2 474 400	1 983 200	2 502 600	2 242 900
	0,1 »	1 793 700	1 675 800	1 734 800	885 460	—	885 460
11	0	11 855 000	11 447 000	11 651 000	6 615 900	6 784 500	6 700 200
	0,05 »	4 769 800	4 544 300	4 657 000	2 553 100	3 475 700	3 014 400
	0,1 »	5 182 000	5 311 200	5 246 600	2 588 400	2 245 800	2 417 100

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Bact. typhi.

Gröfse der Aussaat:

Stamm B.:

Platte 1: 587 Kolonien.
» 2: 589 »
Durchschnitt: 588 Keime.

Stamm K.:

Platte 1: 299 Kolonien.
» 2: 309 »
Durchschnitt: 304 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Methylenblauzusatz	Stamm B. Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden berechnet aus Platte I	Platte II	Durchschnitt	Stamm K. berechnet aus Platte I	Platte II	Durchschnitt
8	0	53 278	51 914	52 596	49 439	50 171	49 805
	0,05 $^0/_{00}$	19 367	19 114	19 240	24 871	20 755	22 813
	0,1 »	14 619	12 625	13 622	17 018	—	17 018
12	0	1 204 800	1 402 700	1 303 750	—	—	—
	0,05 »	992 180	703 290	857 735	—	—	—
	0,1 »	950 940	778 920	864 930	—	—	—
12 $^1/_2$	0	—	—	—	978 000	990 080	984 040
	0,05 »	—	—	—	715 270	—	715 270
	0,1 »	—	—	—	589 560	524 880	557 220

Tabelle VII (zu Versuch 6).

Übersicht über den Einflufs des Methylenblau auf die Generationsdauer.

Versuchsdauer in Std.	Methylenblauzusatz	Generationsdauer (in Minuten) Bact. coli Stamm B.	Bact. coli Stamm S.	Bact. typhi Stamm B.	Bact. typhi Stamm K.
8	0	27,96	23,77	29,18	29,5
	0,05 $^0/_{00}$	29,31	24,31	32,0	31,49
	0,1 »	30,26	26,08	33,10	32,33

Tabelle VIII. Versuch 7.

Bact. coli.

Stamm B. 8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 72,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 23,5 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 3 098 Kolonien.
» 2: 3 226 »
» 3: 3 221 »
Durchschnitt: 3 182 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau i. dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
7	0	13 483	16 160	15 403	14 999
9	2,98	609 280	536 390	481 270	548 980
10	7,71	1 649 100	2 075 400	1 583 500	1 769 300
11	11,1	1 839 100	1 790 600	—	1 814 800
12	19,21	3 228 200	3 294 900	—	3 261 500
13	23,05	5 257 000	5 275 700	—	5 266 300

Tabelle IX. Versuch 8.

Bact. coli.

Stamm B. 3tägige Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 67,0—67,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 21,85 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 3 375 Kolonien.
» 2: 3 300 »
Durchschnitt: 3 338 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau i. dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
5	0	1 515	1 111	1 111	1 246
7	0	54 641	45 046	46 460	48 716
9	0,66	1 036 600	1 052 300	—	1 044 450
10 a	11,99	2 566 500	2 303 000	—	2 434 750
b	15,36	5 602 300	5 508 000	—	5 555 150
10 ½	16,80	4 968 400	4 706 400	—	4 837 400
11	21,68	4 279 600	4 926 700	—	4 603 150
11 ¼	21,80	4 891 200	4 119 000	—	4 505 100

Tabelle X. Versuch 9.

Bact. coli.

Stamm B. 3tägige Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 76,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 23,3 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 2028 Kolonien.
» 2: 1879 »
» 3: 1721 »
Durchschnitt: 1876 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden: Plattenzählung				Kammerzählung		
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt	Kammer I	Kammer II	Durchschnitt
7	0	9 595	9 544	999	9 713	6 000	10 500	8 250
8	0	34 845	32 572	36 258	34 558	15 500	23 000	19 250
9	0,12	158 220	155 440	154 330	155 990	36 500	35 000	35 800
10	2,5	1 494 200	1 437 100	1 212 600	1 381 300	492 000	556 000	524 000
10 ½	2,5	1 671 500	1 680 800	1 574 000	1 642 100	264 000	198 000	231 000
11	3,8	2 161 100	1 834 100	1 601 700	1 865 600	330 000	319 000	325 000
11 ½	5,96	2 059 000	2 332 000	2 715 200	2 368 700	583 000	473 000	528 000
12 ½	11,2 ?	4 713 000	4 590 800	4 670 900	4 658 200	2 310 000	1 716 000	2 013 000
12 ¾	15,07	4 403 700	4 146 200	4 348 200	4 299 500	2 893 000	2 497 000	2 695 000
14	22,0	7 340 700	6 763 000	6 958 800	7 020 800	4 565 000	7 139 000	5 852 000
14 ½	22,9	5 605 100	5 984 900	6 834 100	6 124 700	6 259 000	7 909 000	7 084 000

Tabelle XI. Versuch 10.

Bact. typhi.

Stamm K. 8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 67,0—67,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 21,85 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 1752 Kolonien.
» 2: 1882 »
Durchschnitt: 1817 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau i. dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden: Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
7	0	12 423	12 423	10 352	11 783
9	0,59	258 459	264 822	243 965	255 748
11	3,52	1 220 500	1 618 200	1 771 200	1 536 630
12	8,34	3 138 900	2 463 300	2 838 300	2 813 500
13 a	8,34	2 773 400	2 630 200	—	2 701 800
b	10,99	3 172 400	3 554 400	—	3 363 500
14	12,46	3 691 400	3 307 900	—	3 499 650
15	15,71	2 935 700	2 981 600	—	2 958 650
16	16,07	2 842 500	2 696 100	—	2 769 300

Tabelle XII. Versuch 11.

Bact. typhi.

Stamm G. 8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 72,0—74,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 22,76 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 736 Kolonien.
› 3: 849 ›
› 2: 736 ›
Durchschnitt: 774 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau i. dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
10	0	57 519	62 569	64 690	61 593
11 1/2	1,06	438 140	508 510	461 260	472 640
13 3/4	6,37	3 841 900	3 082 300	3 613 200	3 512 500
14 1/2 a	12,79	3 596 200	3 590 100	4 057 800	3 748 000
b	14,56	2 840 600	2 468 800	—	2 654 700
16	20,77	5 850 900	4 563 500	4 608 000	5 007 500

Tabelle XIII. Versuch 12.

Bact. typhi.

Stamm B. 8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 67,0—69,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 22,56 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 3 956 Kolonien.
› 2: 4 727 ›
Durchschnitt: 4 341 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau i. dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
7	0,02	2 323	2 373	2 727	2 474
10	0,75	137 610	148 170	149 630	145 400
11	2,33	1 043 800	1 025 900	—	1 034 850
12	4,69	1 052 200	1 381 700	596 500	1 010 130
13 a	14,72	—	—	—	—
b	14,12	2 384 200	2 856 000	2 594 900	2 611 700
14	16,63	4 040 300	3 311 300	—	3 675 800
15	21,91	—	—	—	—

Tabelle XIV. Versuch 13.

Bact. typhi.

Stamm G. 6stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 82,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 23,14 dcmg.

Gröſse der Aussaat:
Platte 1: 5 369 Kolonien.
» 2: 5 334 »
» 3: 5 114 »
Durchschnitt: 5 272 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
11	4,05	2 690 800	2 611 900	2 797 100	2 699 900
11 $^1/_4$	6,22	3 650 600	3 915 800	2 686 300	3 417 600
11 $^1/_2$	7,99	4 455 000	2 680 000	—	3 568 000
11 $^3/_4$	12,71	5 045 600	5 217 100	5 321 500	5 194 700
12	15,66	4 101 500	4 631 500	4 076 000	4 269 700
12 $^1/_4$	16,84	3 679 900	3 519 100	—	3 599 000

Tabelle XV. Versuch 14.

Bact. typhi.

Stamm G. 7stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 79,0—81,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 24,17 dzmg.

Gröſse der Aussaat:
Platte 1: 574 Kolonien.
» 2: 467 »
» 3: 527 »
Durchschnitt: 523 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden: Plattenzählung				Kammerzählung		
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt	Kammer I	Kammer II	Durchschnitt
10	0	141 350	130 890	135 950	136 060	124 000	134 000	129 000
11	0,35	334 650	413 640	—	374 140	356 000	334 000	345 000
12	1,93	1 904 400	1 816 200	1 904 700	1 875 200	330 000	528 000	629 000
13	8,01	5 092 300	4 483 500	—	7 487 900	5 027 000	6 534 000	5 780 500
13 $^1/_4$	10,7	6 278 100	6 044 300	1 072 300	6 131 600	7 260 000	7 678 000	7 469 000
13 $^1/_2$	15,29	5 430 000	5 408 200	5 108 100	5 315 400	5 324 000	—	5 324 000
14 $^1/_2$	20,49	5 131 100	5 372 600	—	5 251 800	4 532 000	—	4 532 000
15	21,71	5 886 300	5 619 900	—	5 753 100	6 930 000	—	6 930 000
15 $^1/_2$	21,71	5 745 000	6 306 100	5 214 400	5 755 200	8 701 000	7 359 000	8 030 000

Tabelle XVI. Versuch 15.

Bact. paratyphi A.

8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 72,5—74,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 22,76 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 1 521 Kolonien.
» 2: 1 618 »
» 3: 1 510 »
Durchschnitt: 1 549 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
10	0	83 426	89 536	108 880	93 947
11 1/2	1,61	2 206 900	2 038 300	1 985 200	2 076 800
13 a	16,12	6 134 900	5 812 600	5 680 000	5 875 800
b	13,68	6 856 500	7 560 600	7 767 100	7 394 800
13 1/4	18,55	8 135 400	6 159 100	7 090 500	7 128 300

Tabelle XVII. Versuch 16.

Bact. paratyphi A.

8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 82,0—82,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 25,53 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 376 Kolonien.
» 2: 413 »
Durchschnitt: 394 Keime.

Versuchsdauer in Stdn.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
11 1/4	2,63	239 370	242 200	—	240 785
11 3/4	2,63	692 190	764 630	—	728 410
12 1/4	3,82	593 490	515 050	—	554 270
13 1/2	6,19	1 717 700	2 073 800	1 686 500	1 826 000
14	9,74	1 893 800	2 118 400	2 080 100	2 030 800
14 1/2	10,33	1 431 000	1 645 100	1 501 400	1 525 800
14 3/4	11,71	3 477 900	3 162 700	—	3 320 300
15	12,70	1 741 800	2 645 500	—	2 193 500
16	18,42	3 083 400	3 900 000	2 309 900	3 097 800
16 1/2	19,41	4 341 800	4 219 500	3 452 400	4 004 400

Tabelle XVIII. Versuch 17.

Bact. paratyphi A.

8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 72,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau (in 50 ccm) = 23,5 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 212 Kolonien.
» 2: 227 »
» 3: 267 »
Durchschnitt: 253 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
7	0	202	202	404	269
10	0	5 858	6 909	—	6 383
12	0	39 795	45 096	42 016	42 302
15	2,75	867 540	746 650	535 650	716 610
16	4,33	1 281 500	1 328 800	1 913 200	1 507 800
17	10,42	1 982 700	1 755 600	—	1 869 100
18	11,77	1 964 100	1 966 500	1 935 400	1 955 300
19	16,06	1 846 300	1 496 800	1 445 500	1 596 200
20	18,09	2 453 700	2 584 600	—	2 519 100
21	18,76	2 553 000	1 788 800	—	2 170 900

Tabelle XIX. Versuch 18.

Bact. paratyphi B.

8stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 72,5—74,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau (in 50 ccm) = 22,76 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 1 397 Kolonien.
» 2: 1 264 »
» 3: 1 348 »
Durchschnitt: 1 336 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
10	0,83	441 950	458 840	515 920	472 240
11 1/2	5,48	3 336 000	3 958 300	3 735 900	3 676 700
12	7,03	2 882 500	2 540 100	2 605 900	2 676 200
13	15,23	3 621 000	3 388 500	2 754 700	3 254 700

Tabelle XX. Versuch 19.

Bact. paratyphi B.

7 stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 82,0—82,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 25,53 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 5 483 Kolonien.
» 2: 5 568 »
Durchschnitt: 5 525 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
10 1/4	9,74	2 300 100	1 979 500	2 462 700	2 247 400
10 1/2	11,12	3 847 700	3 161 500	3 482 700	3 497 300
10 3/4	14,28	2 187 400	2 043 900	3 095 500	2 442 300
11	13,48	5 731 200	6 781 900	9 001 600	7 171 600
11 1/4	15,66	3 123 700	2 597 500	3 723 000	3 148 100
11 1/2	17,64	5 594 900	5 065 100	7 465 700	6 041 900
12	20,40	7 114 400	6 393 500	6 151 600	6 553 200

Tabelle XXI. Versuch 20.

Bact. paratyphi B.

6 stünd. Kultur.

(Nährboden: Bouillon.)

Titer:
0,01 g Fe = 82,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 23,14 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 4 134 Kolonien.
» 2: 4 093 »
» 3: 3 939 »
Durchschnitt: 4 055 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylen-blau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:			
		Platte I	Platte II	Platte III	Durchschnitt
8	0,71	1 114 300	1 000 800	1 147 600	1 087 600
8 1/4	5,63	2 493 100	2 521 700	2 333 600	2 449 500
8 1/2	1,89	1 712 700	1 605 900	1 480 100	1 599 600
8 3/4	4,05	3 119 200	3 098 900	3 026 900	3 081 700
9	7,39	2 961 300	3 410 500	3 716 400	3 362 700
9 1/4	7,99	3 976 700	3 113 800	4 096 900	3 729 100
9 1/2	12,37	5 791 000	5 405 400	5 800 100	5 665 500
10	18,81	7 121 500	7 044 700	5 996 100	6 720 800
10 1/4	22,35	7 349 100	7 058 100	8 524 000	7 643 700
10 1/2	22,94	9 767 600	9 898 900	10 949 000	10 088 500

Tabelle XXII.

Berechnung der Reduktionsgröfse und Generationsdauer für Bact. coli.
(Nährboden: Bouillon.)

Versuch Nr.	Bezeichnung u. Alter der Stammkultur	Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Mittlere Aussaatmenge	Mittlere Erntemenge in Tausenden	Mittlere (geometr.) Keimzahl	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen in millionstel mg	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen in 1 Std. in millionstel mg	Zahl der Generationen	Generationsdauer in Min.
7	B.	9	2,98	3182	548 980	1 321 700	260	25	17,4	31,0
	8 Std.	10	7,71	3182	1 769 300	2 372 500	330	33	19,1	31,4
		11	11,1	3182	1 814 800	2 403 200	580	53	19,1	34,5
		12	19,21	3182	3 261 500	3 221 700	600	50	19,9	36.1
		13	23,05	3182	5 266 300	4 093 500	560	43	20,7	37,8
8	B.	9	0,66	3338	1 044 450	1 866 800	35	3,9	18,3	29,6
	3 Tage	10 a	11,99	3338	2 434 750	2 851 000	420	42	19,5	30,8
		b	15,36	3338	5 555 150	4 306 100	360	36	20,7	29,0
		10 1/2	16,8	3338	4 837 400	4 018 200	420	42	20,5	29,4
		11	21,68	3338	4 603 150	3 919 800	550	50	20,4	32,4
		11 1/4	21,8	3338	4 505 100	3 455 800	630	56	20,4	32,4
9	B.	10	2,5	1876	1 381 300	1 609 600	160	16	19,5	30,8
	3 Tage	10 1/2	2,5	1876	1 642 100	1 755 100	140	14	19,7	31,9
		11	3,8	1876	1 865 600	1 871 000	200	18	19,9	33,1
		11 1/2	5,96	1876	2 368 700	2 108 100	280	25	20,3	37,1
		12 3/4	15,07	1876	4 299 400	2 839 900	530	42	21,1	36,2
		14	22,0	1876	7 020 800	3 629 100	610	43	21,8	38,5
		14 1/4	22,9	1876	6 124 700	3 389 800	680	46	21,6	39,5

Tabelle XXIII.

Berechnung der Reduktionsgröfse und Generationsdauer für Bact. typhi.

(Nährboden: Bouillon.)

Versuch Nr.	Bezeichnung u. Alter der Stammkultur	Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Mittlere Aussaatmenge	Mittlere Erntemenge in Tausenden	Mittlere (geometr.) Keimzahl	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen (in millionstel mg)	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen in 1 Std. (in millionstel mg)	Zahl der Generationen	Generationsdauer in Min.
10	K.	9	0,59	1817	255 749	681 620	86	9,5	17,1	31,6
	8 Std.	11	3,5	1817	1 536 630	1 671 100	210	19	19,7	33,5
		12	8,34	1817	2 813 500	2 261 200	370	31	20,6	35,0
		13 a	8,34	1817	2 701 800	2 215 800	340	29	20,5	38,0
		b	10,99	1817	3 363 500	2 472 300	440	34	20,8	37,5
		14	12,46	1817	3 499 650	2 521 800	490	35	20,9	40,2
		15	15,71	1817	2 958 650	2 318 700	680	45	20,6	43,6
11	G.	11 1/2	1,6	774	472 640	604 800	180	15	19,2	35,9
	8 Std.	13 3/4	6,37	774	3 512 500	1 649 000	390	28	22,1	35,9
		14 1/2 a	12,79	774	3 748 000	1 703 200	750	52	22,2	38,5
		b	14,56	774	2 654 700	1 433 500	1020	70	21,7	39,4
		16	20,77	774	5 007 500	1 968 800	1060	66	22,6	42,4
12	B.	10	1,75	4341	145 400	794 460	220	22	15,0	39,9
	8 Std.	11	2,33	4341	1 034 850	2 119 600	110	10	17,9	36,9
		12	4,69	4341	1 010 130	2 093 900	220	19	17,8	40,4
		13	14,12	4341	2 611 700	3 367 300	420	32	19,2	40,7
		14	16,63	4341	3 675 800	3 994 700	420	30	19,7	42,7
13	G.	11	4,05	5272	2 699 900	3 772 200	110	9,7	18,9	34,8
	6 Std.	11 1/4	6,22	5272	3 417 600	4 244 900	150	13	19,3	34,9
		11 1/2	7,99	5272	3 568 000	4 337 100	180	16	19,4	35,6
		11 3/4	12,71	5272	5 194 700	5 233 400	240	21	19,9	35,4
		12	15,66	5272	4 269 700	4 744 600	330	28	19,7	36,6
		12 1/4	16,84	5272	3 599 000	4 355 900	390	30	19,4	37,9
14	G.	11	0,35	523	374 140	442 320	79	7,2	19,5	33,9
	7 Std.	12	1,93	523	1 875 200	990 260	190	16	21,8	33,1
		13	8,01	523	4 787 900	1 582 400	510	39	23,1	33,7
		13 1/4	10,7	523	6 131 600	1 790 800	600	43	23,5	33,9
		13 1/2	15,29	523	5 315 400	1 667 200	920	68	23,3	34,6
		14 1/2	20,49	523	5 251 800	1 657 400	1240	85	23,3	37,4
		15	21,71	523	5 753 100	1 734 600	1250	83	23,4	38,6
		15 1/2	21,71	523	5 755 200	1 734 900	1250	81	23,4	39,7

Tabelle XXIV.

Berechnung der Reduktionsgröfse und Generationsdauer für

Bact. paratyphi A.

(Nährboden: Bouillon.)

Versuch Nr.	Alter der Stamm-kultur	Ver-suchs-dauer in Std.	Reduz. Menge Methylen-blau in dcmg	Mittlere Aus-saat-menge	Mittlere Ernte-menge in Tausenden	Mittlere (geometr.) Keimzahl	Reduk-tions-gröfse von 1000 Keimen (in millionstel mg)	Reduk-tions-gröfse von 1000 Keimen in 1 Std. (in millionstel mg)	Zahl der Gene-ratio-nen	Gene-rations-dauer in Min.
15	8 Std.	11 1/2	1,61	1549	2 076 800	1 793 600	90	7,8	20,4	33,9
		13 a	16,12	1549	5 875 800	3 016 900	530	41	21,9	35,7
		b	13,68	1549	7 394 800	3 384 500	460	31	22,2	35,2
		13 1/4	18,55	1549	7 128 300	3 322 900	560	41	22,1	35,9
16	8 Std.	11 1/4	2,63	394	240 785	308 020	850	76	19,2	35,1
		11 3/4	2,63	394	728 410	535 710	490	42	20,8	33,9
		12 1/4	3,82	394	554 270	467 320	650	53	20,4	35,9
		13 1/2	6,19	394	1 826 000	848 200	730	54	22,1	36,6
		14	9,74	394	2 030 800	894 540	1090	78	22,3	37,7
		14 1/2	10,33	394	1 525 800	775 390	1330	92	21,9	39,8
		14 3/4	11,71	394	3 320 300	1 143 700	1020	71	23,0	38,5
		15	12,7	394	2 193 500	929 760	1360	91	22,4	40,2
		16	18,42	394	3 097 800	1 104 300	1670	104	22,9	41,9
		16 1/2	19,41	394	4 004 400	1 256 000	1550	94	23,3	42,5
17	8 Std.	15	2,75	253	716 610	425 690	650	43	21,4	41,9
		16	4,33	253	1 507 800	617 680	700	44	22,5	42,7
		17	10,42	253	1 869 100	687 630	150	89	22,8	44,7
		18	11,77	253	1 955 300	703 290	170	93	22,9	47,2
		19	16,06	253	1 596 200	635 430	250	133	22,9	49,7
		20	18,09	253	2 519 100	798 300	230	113	23,3	51,6
		21	18,76	253	2 170 900	7 411 100	250	120	23,0	43,5

Tabelle XXV.

Berechnung der Reduktionsgröße und Generationsdauer für

Bact. paratyphi B.

(Nährboden: Bouillon.)

Versuch Nr.	Alter der Stamm kultur	Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Mittlere Aussaatmenge	Mittlere Erntemenge in Tausenden	Mittlere (geometr.) Keimzahl	Reduktionsgröße von 1000 Keimen (in millionstel mg)	Reduktionsgröße von 1000 Keimen in 1 Std. (in millionstel mg)	Zahl der Generationen	Generationsdauer in Min.
18	8 Std.	10	0,83	1336	472 240	794 300	100	10	18,4	32,6
		11 1/2	5,48	1336	3 676 700	2 216 400	250	22	21,4	32,3
		12	7,03	1336	2 676 200	1 890 800	370	31	20,9	34,4
		13	15,23	1336	3 254 700	2 085 400	730	56	21,2	36,8
19	7 Std.	10 1/4	9,74	5525	2 247 400	3 523 400	280	27	18,6	33,0
		10 1/2	11,12	5525	3 497 300	4 395 500	250	24	19,3	32,7
		10 3/4	14,28	5525	2 442 300	3 673 200	390	36	18,7	36,0
		11	13,48	5525	7 171 600	6 294 800	210	20	20,3	32,5
		11 1/4	15,66	5525	3 148 100	4 170 400	380	32	19,1	35,3
		11 1/2	17,64	5525	6 041 900	5 777 700	310	27	20,1	34,4
		12	20,4	5525	6 553 200	6 017 000	340	28	20,2	35,7
20	6 Std.	8	0,71	4055	1 087 600	2 100 400	34	4,2	18,0	26,6
		8 1/4	5,63	4055	2 449 500	3 151 300	180	22	19,2	25,7
		8 1/2	1,89	4055	1 599 600	2 546 400	74	8,7	18,6	27,4
		8 3/4	4,05	4055	3 081 700	3 535 200	110	13	19,5	26,9
		9	7,39	4055	3 362 700	3 692 900	200	22	19,7	27,5
		9 1/4	7,99	4055	3 729 100	3 888 300	210	22	19,8	28,0
		9 1/2	12,37	4055	5 665 500	4 793 200	260	27	20,4	27,9
		10	18,81	4055	6 720 800	5 220 500	360	36	20,7	29,1
		10 1/4	22,35	4055	7 643 700	5 567 400	400	39	20,8	29,5
		10 1/2	22,94	4055	10 038 500	6 380 600	360	34	21,2	29,7

Tabelle XXVI.

Mittlere Reduktionsgröfse für Methylenblau

berechnet auf 1000 Keime und 1 Stunde.

(Nährboden: Bouillon.)

Gröfse der Aussaat	Koli 9—11 Std.		Typhus 11—13 Std.		Paratyphus A. 11—13 Std.		Paratyphus B. 9—11 Std.	
	VII	25	XII	10			XIX	27
		33		19				24
		53		32				36
	VIII	3,9	XIII	9,7				20
über		42		13			XX	22
3000 Keime.		36		16				22
		42		21				27
		50		28				36
				30				39
								34
	10—12 Std.		12—14 Std.		12—14 Std.		10—12 Std.	
	IX	16	X	31	XV	41	XVIII	10
		14		34		31		22
		18		35		41		31
unter		25	XI	28	XVI	53		
3000 Keime.			XIV	16		54		
				39		78		
				43				
				68				

Die arabischen Ziffern bedeuten millionstel Milligramm.

Die römischen bezeichnen die Nummern der Versuche.

Tabelle XXVII. Versuch 21.

Bact. coli.

Stamm S. 7 1/2 stünd. Kultur.

Nährboden: Peptonwasser mit 1 % Traubenzucker.

Titer:
0,01 g Fe = 82,0 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 24,9 dcmg.

Größe der Aussaat:
Platte 1: 4 324 Kolonien.
» 2: 4 380 »
» 3: 5 270 »
Durchschnitt: 4 658 Keime.

Versuchs-dauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:		
		Platte I	Platte II	Durchschnitt
3	0	76	76	76
5	0	2 116	2 397	2 256
6	0	22 574	25 553	24 063
7	0	106 350	101 610	103 980
8	0	1 177 100	1 065 300	1 121 200
9	3,93	3 274 700	3 022 500	3 148 600
10	10,15	2 841 000	3 326 000	3 083 500
11	19,06	4 019 000	4 562 700	4 290 850
12	21,44	5 275 500	4 826 000	5 050 000
13	21.04	5 034 000	5 959 000	5 496 500
23	19,06	3 561 300	5 850 500	4 705 900

Tabelle XXVIII. Versuch 22.

Bact. coli.

Stamm S. 9stünd. Kultur.

(Nährboden: Peptonwasser mit verschiedenem Zusatz von Traubenzucker.)

Titer:
0,01 g Fe = 62,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 24,8 dcmg.

Gröſse der Aussaat:
Platte 1: 4321 Kolonien.
» 2: 4716 »
Durchschnitt: 4518 Keime.

Traubenzuckergehalt des Nährbodens	Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:		
			Platte I	Platte II	Durchschnitt
1 %	7	1,43	864 440	963 560	914 000
	8 ½	15,35	4 611 300	5 694 500	5 152 900
	10	22,72	6 676 700	7 347 200	7 011 900
	11 ½	21,68	7 817 200	6 676 700	7 244 900
0,25 %	7	0	311 180	301 080	306 130
	8 ½	0	30 502	32 522	31 512
	9 ½	16,1	5 252 200	5 669 300	5 460 700
	10	22,46	8 283 400	6 382 200	7 332 800
	11 ½	22,46	5 969 100	7 277 500	6 623 300
0,1 %	7	0	80 950	81 609	81 279
	8 ½	5,06	4 295 200	3 508 900	3 902 000
	10	23,24	6 985 000	6 300 700	6 642 800
	11 ½	23,24	5 572 100	4 947 000	5 009 500

Tabelle XXIX. Versuch 23.

Bact. coli.

Stamm S. 9stünd. Kultur.

(Nährboden: Peptonwasser mit verschiedenem Zusatz von Traubenzucker.)

Titer:
0,01 g Fe = 63,0—63,3 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau (in 50 ccm) = 24,9 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 2 848 Kolonien.
» 2: 4 381 »
» 3: 5 213 »
Durchschnitt: 4 127 Keime.

Traubenzuckergehalt des Nährbodens	Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden:		
			Platte I	Platte II	Durchschnitt
0,03 ‰	5	0	1 616	1 464	1 540
	7	0	196 650	217 100	206 870
	9	2,4	1 586 700	1 529 000	1 557 800
	10	3,05	1 298 100	1 635 800	1 466 900
	11 1/2	2,28	1 360 800	939 000	1 149 900
0,035 ‰	5	0	3 282	3 332	2 307
	7	0	117 020	125 640	121 330
	7 1/2	1,5	844 590	800 830	822 710
	9	2,02	1 835 800	1 474 900	1 655 300
	10	5,1	1 352 300	1 973 200	1 662 700
0,04 ‰	5	0	4 797	4 494	4 646
	7	0	373 870	371 450	745 320
	9	4,33	1 828 600	1 641 200	1 734 900
	10	5,62	1 914 400	1 901 600	1 908 000

Tabelle XXX. Versuch 24.

Bact. coli.

Stamm B. 11 1/2 stünd. Kultur.

(Nährboden: Peptonwasser mit verschiedenem Zusatz von Traubenzucker.)

Titer:
0,01 g Fe = 76—77,5 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 24,89 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 9 008 Kolonien.
» 2: 8 614 »
» 3: 7 726 »
Durchschnitt: 8 449 Keime.

Traubenzuckergehalt des Nährbodens	Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden: Platte I	Platte II	Durchschnitt
0,035 °/oo	7	0	8 888	8 433	8 660
	9	0	83 171	75 398	79 254
	13	2,54	2 430 500	1 968 500	2 199 500
	14	8,02	833 700	1 068 300	951 000
	15 1/4	1,27	1 427 300	1 339 000	1 383 300
0,045 °/oo	7	0	5 252	7 070	6 161
	9	0	112 720	112 820	112 770
	13	?	1 842 800	1 627 800	1 735 300
	14	12,03	1 060 900	1 053 700	1 057 300
	15 1/4	12,03	1 348 100	1 503 200	1 425 600

Tabelle XXXI. Versuch 25.

Bact. typhi.

Stamm K. 7 1/2 stünd. Kultur.

(Nährboden: Peptonwasser mit 1 °/o Traubenzucker.)

Titer:
0,01 g Fe = 62,2 ccm.
Anfängl. Menge Methylenblau
(in 50 ccm) = 24,9 dcmg.

Gröfse der Aussaat:
Platte 1: 1 819 Kolonien.
» 2: 1 637 »
» 3: 2 142 »
Durchschnitt: 1 899 Keime.

Versuchsdauer in Std.	Reduzierte Menge Methylenblau in dcmg	Keimzahl, auf 50 ccm bezogen, in Tausenden: Platte I	Platte II	Durchschnitt
7	0		25	25
11	0	51	51	51
16	0	4 040	4 545	4 292
19	0	16 160	16 160	16 160
22	2,55	1 471 800	1 233 900	1 352 850
23	5,3	4 896 600	5 007 800	4 951 900
25	4,9	2 897 600	4 454 600	3 726 100
28 a	4,74	6 044 200	5 375 900	6 571 000
b	4,9	4 479 300	5 833 100	5 156 200

Tabelle XXXII.

Berechnung der Reduktionsgröfse und Generationsdauer für Bact. coli.
(Nährboden: Peptonwasser mit Traubenzucker.)

Versuch Nr.	Traubenzuckergehalt des Nährbodens	Bezeichnung u. Alter der Stammkultur	Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Mittlere Aussaatmenge	Mittlere Erntemenge in Tausenden	Mittlere (geometr.) Keimzahl	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen (in millionstel mg)	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen in 1 Std. (in millionstel mg)	Zahl der Generationen	Generationsdauer
21	1 %	S.	9	3,93	4658	3 148 600	3 829 900	100	11	19,4	28,5
		7 1/2 Std.	10	10,15	4658	3 083 500	3 790 100	270	27	19,3	31,0
			11	19,06	4658	4 290 850	4 470 800	430	39	19,8	33,3
			12	21,44	4658	5 050 750	4 850 600	440	37	20,2	35,6
			13	21,04	4658	5 496 500	5 060 100	420	32	20,2	38,6
			23	19,06	4658	4 705 900	4 682 000	410	18	19,9	69,2
22	1 %	S.	7	1,43	4518	914 000	2 032 100	70	10	17,6	28,9
		9 Std.	8 1/2	15,35	4518	5 152 900	4 825 000	320	37	20,1	25,4
			10	22,72	4518	7 011 900	5 628 500	400	40	20,6	29,2
			11 1/2	21,68	4518	7 246 900	5 722 000	380	33	20,6	33,5
	0,25 %		9 1/2	16,1	4518	5 460 700	4 967 200	320	34	20,2	28,2
			10	22,46	4518	7 332 800	5 755 900	390	39	20,6	29,1
			11 1/2	22,46	4518	6 623 300	5 470 100	410	36	20,5	33,7
	0,1 %		8 1/2	5,06	4518	3 902 000	4 198 800	130	14	19,7	25,9
			10	23,24	4518	6 642 800	5 478 400	420	42	20,5	29,3
			11 1/2	23,24	4518	5 009 500	4 757 700	490	42	20,1	34,4
23	0,03 ‰	S.	9	2,4	4127	1 557 800	2 535 700	95	11	18,5	29,2
		9 Std.	10	3,05	4127	1 466 900	2 460 500	120	12	18,4	32,5
			11 1/2	2,28	4127	1 149 900	2 178 700	110	9,2	18,1	38,2
	0,035 ‰		7 1/2	1,5	4127	822 710	1 842 600	82	14	17,6	25,6
			9	2,02	4127	1 655 300	2 613 400	77	8,6	18,6	29,0
			10	5,1	4127	1 662 700	2 619 800	190	19	18,6	32,2
	0,04 ‰		9	4,33	4127	1 734 900	2 675 800	160	18	18,7	28,9
			10	5,62	4127	1 908 000	2 806 100	200	20	18,8	31,9
24	0,045 ‰	B.	14	12,03	8449	1 057 300	2 988 400	400	29	16,9	49,6
		11 1/2 Std.	15 1/4	12,03	8449	1 425 600	3 471 100	350	22	17,4	52,7
	0,035 ‰		13	2,54	8449	2 199 500	4 310 400	59	5,9	18,1	43,0
			14	8,02	8449	951 000	2 681 400	300	22	16,6	50,5
			15 1/4	1,27	8449	1 383 000	3 418 300	37	2,4	17,3	53,7

Tabelle XXXIII.

Berechnung der Reduktionsgröfse und Generationsdauer für Bact. typhi.
(Nährboden: Peptonwasser mit 1 % Traubenzucker.)

Versuch Nr.	Bezeichnung u. Alter der Stammkultur	Versuchsdauer in Std.	Reduz. Menge Methylenblau in dcmg	Mittlere Aussaatmenge	Mittlere Erntemenge in Tausenden	Mittlere (geometr.) Keimzahl	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen (in millionstel mg)	Reduktionsgröfse von 1000 Keimen in 1 Std. (in millionstel mg)	Zahl der Generationen	Generationsdauer
25	K.	22	2,55	1849	1 352 850	1 603 100	160	7,2	19,4	67,9
	7 1/2 Std.	23	5,3	1849	4 951 900	3 066 600	170	7,5	21,3	64,7
		25	4,9	1849	3 726 100	2 660 000	180	7,7	20,9	71,7
		28 a	4,74	1849	6 571 000	3 532 400	130	4,8	21,7	77,3
		b	4,9	1849	5 156 000	3 129 000	160	5,6	21,4	78,6

Über den Prozefs der Selbstreinigung der natürlichen Wässer nach ihrer künstlichen Infizierung durch Bakterien.

Von

Prof. Dr. **E. Schepilewsky**.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Dorpat. Direktor: Prof. E. Schepilewsky.)

Die durch Emmerich aufgeworfene Frage über die Rolle der Protozoen im Wasser und über die Fähigkeit derselben, ins Wasser gebrachte pathogene Bakterien rasch zu vernichten, ist in der hygienischen Literatur wenig beleuchtet. Die nach Mitteilung dieses Autors[1]) erschienenen Arbeiten von Huntermüller, Fers und Korschun haben haupsächlich die durch Emmerich angeführte Tatsache über die Selbstreinigung des Wassers von pathogenen Bakterien durch die Protozoen bestätigt und darauf hingewiesen, dafs nicht nur diese Bakterien, sondern auch saprophytische im Wasser vernichtet werden. Als Ergänzung und gleichzeitig im Gegensatz zur Meinung Emmerichs haben Fers und Korschun gefunden, dafs die Thyphus- und Cholerabakterien aus dem Wasser nicht so schnell verschwinden, wie es Emmerich und Huntermüller angenommen haben. Aufser diesen Angaben ist uns über den Prozefs der Selbstreinigung des Wassers durch Protozoen nichts bekannt; auch wissen wir nichts, ob sie in der Natur dieselbe Bedeutung haben, die wir bei den Laboratorienversuchen konstatieren können.

---

1) Emmerich, Die Beurteilung des Wassers vom bakteriologischen Standpunkte. Zeitschr. f. Untersuchung der Nähr- und Genufsmittel. 1904.

In meiner Arbeit »zur Frage über das Schicksal der Typhusbakterien im Wasser«[1]) habe ich das Zusammenfallen der Schnelligkeit der Selbstreinigung des Wassers mit der Menge der Bakterien in demselben angeführt und ausgesprochen, daſs die Zahl der Protozoen im Wasser überhaupt um so gröſser sein muſs, je mehr es durch Bakterien verunreinigt ist. Die Vermutung liegt daher nahe, daſs auch in der Natur bei der Befreiung des Wassers von Bakterien die Protozoen eine wesentliche Rolle spielen müssen. Zur Bestätigung des eben Gesagten könnte man in Berücksichtigung ziehen die auſserordenttiche Verbreitung der Protozoen in den Naturwässern[2]), ihre obligatorische Gegenwart in mehr oder weniger oberflächlichen Wässern und die Fähigkeit, sich in ungeheuren Mengen und mit Erstaunen erregender Geschwindigkeit nach Hineintragung der Bakterien ins Wasser zu vermehren.

Die weitere Erforschung des Prozesses der Selbstreinigung der Wässer in der Natur wird zeigen, ob die Protozoen in ihr irgendwelche Rolle spielen, und zwar welche. Aber um zur Aufklärung dieser in jedem Falle nicht einfachen Frage heranzutreten, ist es notwendig, sich mit dem Prozesse der Selbstreinigung der Wässer vorläufig durch verhältnismäſsig einfache Laboratoriumsversuche bekannt zu machen. Daher stellte ich mir auch diese Aufgabe als Grundlage der von mir auszuführenden Untersuchungen über den Prozeſs der Selbstreinigung des Wassers bei Verunreinigung mit Bakterien.

1) Wjestnik Obschtschestwennoi Hygieny etc. 1908. September.

2) In betreff der allgemeinen Verbreitung der Protozoen in den Naturwässern kann ich zu den Beobachtungen, die ich in meiner oben zitierten Arbeit angeführt habe, hinzufügen, daſs ich bei weiteren Untersuchungen nur einmal ein protozoenfreies Wasser gefunden habe. Dieses Wasser stammte von einem soeben von der Stadtverwaltung in Dorpat erbauten Rohrbrunnen her, der eine Tiefe von 28 m hat und von einer tiefliegenden mächtigen Wasserschicht genährt wird. Die Wässer verschiedener anderer Brunnen der Stadt Dorpat erwiesen sich als beständig Protozoen enthaltend. Nach den Untersuchungen von Razzeto in Lima (Peru) charakterisieren sich Wässer von artesischen Brunnen und von bekannten mehr oder weniger tiefliegenden Quellen durch völlige Abwesenheit von Protozoen. (Razzeto, Über die hygienische Bedeutung von Protozoen im Wasser und über das Verhalten von Filtern gegenüber Protozoen. Hyg. Rundschau 1908. Nr. 17.)

Die Inkubationsperiode der Reinigung des Wassers von Bakterien.

Wenn man verhältnismäfsig seltene Wässer, in welchen Protozoen sich nicht erwiesen, ausschliefst, so kann als Regel gelten, dafs jedes Wasser, welches in der Gestalt, wie es in der Natur vorkommt, genommen wird, bakterizide Eigenschaften besitzt, d. h. die dort hineingetragenen Bakterien in kurzer Zeit vernichtet. Hiervon kann man sich leicht überzeugen, wenn man mit solchem infizierten Wasser Nährboden im Laufe einiger Tage besät. Mit der Vernichtung der Bakterien im Wasser wird zugleich bemerkt: erstens eine starke Vermehrung der Protozoen in demselben, vorzüglich geifseltragender Form, und zweitens, vollständige Klärung des bis dahin von den hineingetragenen Bakterien mehr oder weniger trüben Wassers.

Dieses Phänomen ist im höchsten Grade beständig, besonders wenn dabei gewisse Bedingungen beachtet werden. Am besten gelingt die Beobachtung, wenn man zu ungefähr 100 ccm Wasser 2—3 Ösen Agarkultur irgendeiner Bakterienart hinzufügt. Das derart infizierte Wasser lasse ich in einem sterilen Kölbchen bei einer Temperatur von 25—26° C stehen. Der Reinigungsprozefs des Wassers erfolgt auch bei einer niedrigeren Temperatur, ist dann aber langsamer.

Bei der Ausführung der Untersuchungen über die bakterizide Eigenschaft des Wassers kann man eine im höchsten Grade beständige Erscheinung beobachten, und zwar: nach der Infizierung des Wassers durch Bakterien bleibt es im Laufe der ersten Tage gleich trübe (von der hineingetragenen Kultur), oder die Trübung verstärkt sich sogar im Laufe der ersten oder zweiten 24 Stunden. Nach Verlauf einiger Tagen klärt sich darauf das Wasser mit einem Mal in 24 oder 36 Stunden.

Die Reinigung des Wassers geht auf diese Art nicht stufenweise, sondern kritisch vor sich. Unmittelbar nach der Infizierung des Wassers durch Bakterien offenbart sich die bakterizide Eigenschaft desselben durch nichts. Man könnte sagen, dafs sie

vollkommen abwesend ist. In Wirklichkeit aber befindet sich dieselbe zu dieser Zeit in verstecktem Zustande, dank welchem die in das Wasser hineingetragenen Bakterien die Möglichkeit haben, sich etwas zu vermehren. Aber später, nach einer für jede Wasserquelle bestimmten Zeit, äuſsert sich diese bakterizide Kraft unverändert, und die Bakterien werden vernichtet. Daraus geht hervor, daſs der Prozeſs der Selbstreinigung des Wassers eine bestimmt ausgesprochene Inkubationsperiode hat, welche der Befreiung des Wassers von Bakterien vorhergeht.

Solchergestalt ist der sichtbare Verlauf des Reinigungsprozesses des Wassers von Bakterien. Die systematische Untersuchung des Wassers nach der Infizierung auf das Vorhandensein von Protozoen in demselben zeigt, daſs sie sich gleichfalls im Laufe einer sehr kurzen Zeit im Wasser vermehren: in 24 oder etwas mehr Stunden. In den ersten Tagen nach der Infizierung offenbart die Untersuchung des Wassers noch nicht die Gegenwart von Protozoen in demselben. Letztere treten erst 1—2 Tage vor Beginn der Klärung des Wassers auf, und zwar anfangs nur in der Einzahl oder in sehr geringer Mehrzahl auf einen Tropfen Wasser[1]). 24 Stunden nach Konstatierung einzelner Exemplare von Protozoen ergibt die neue Untersuchung des Wassers schon eine kolossale Menge derselben. Auf diese Weise vollzieht sich die Vermehrung der Protozoen ebenso kritisch wie auch die Klärung des Wassers. Diese beiden Erscheinungen befinden sich offenbar in kausaler Abhängigkeit voneinander, und das »plötzliche« Auftreten von bakteriziden Eigenschaften im Wasser ist durch eine ebenso »plötzliche« Vermehrung der Protozoen zu erklären. Wodurch aber könnte man sich in diesem Falle das Fehlen dieser Eigenschaften in den ersten Tagen nach der Infizierung des Wassers erklären? Mit anderen Worten, wodurch wird die mit solch einer Beständigkeit beobachtete bestimmte Inkubationsperiode der Reinigung

---

1) Zur Feststellung der Protozoen wurde von der Wasseroberfläche ein Tröpfchen mit der Platinöse genommen und in der feuchten Kamera mit dem Trockensystem einer Untersuchung unterworfen.

des Wassers bedingt. Zur Erklärung der Ursache dieses Phänomens habe ich Experimente wiederholter Infizierung ein und derselben Wasserprobe angestellt, indem ich jedesmal die Bakterien erst dann ins Wasser tat, als dasselbe schon vollständig von den Bakterien der vorhergegangenen Infizierung befreit war und vollkommen klar geworden war. Dabei mufs bemerkt werden, dafs gewöhnlich nach Beendigung des Reinigungsprozesses des Wassers die vegetativen Formen der Protozoen sich in der Zahl stark vermindern, aber ungeachtet dessen im Laufe einer sehr langen Zeit aus dem Wasser nicht verschwinden. Bei wiederholten Infizierungen des Wassers befanden sich die Protozoen infolgedessen in demselben stets in der genannten Form.

Der folgende Versuch zeigt, wie sich bei dieser wiederholten Infizierung die Inkubationsperiode der Reinigung des Wassers ändert.

Versuch Nr. 6.

11. XII. 1908. 100 ccm Wasser aus der Universitätswasserleitung wurden mit 4 Ösen Bact. coli infiziert, das einer Agarkultur entnommen war. Das Wasser wurde bei 25° C in den Thermostat gestellt. Die Klärung des Wassers erfolgte nach sechs Tagen.

17. XII. 1908. Nach der vollständigen Klärung wurde dieselbe Quantität Bact. coli zum zweiten Male in den Kolben getan. Die Klärung des Wassers erfolgte nach zwei Tagen.

28. XII. 1908. Wieder, nach vollständiger Klärung des Wassers, wurde dieselbe Wasserprobe zum dritten Male durch 4 Ösen Bact. coli infiziert. Die Klärung erfolgte drei Tage nach der Infizierung.

Daraus folgt, dafs die Inkubationsperiode der Selbstreinigung des Wassers bei wiederholten Infizierungen bedeutend, um zwei und mehrmal verkürzt wird.

Augenscheinlich behält das Wasser die bakteriziden Kräfte, die nach der ersten Infizierung aus dem untätigen in den aktiven Zustand übergegangen sind, und in solch einem Zustande steht das Wasser der neuen Infizierung gegenüber. Infolgedessen fällt die Inkubationsperiode bei wiederholten Infizierungen des Wassers aus dem ganzen Reinigungsprozesse aus.

Zur Erklärung des Vorhandenseins der Inkubationsperiode in der Selbstreinigung des Wassers von Bakterien bei den ersten und Abwesenheit derselben bei wiederholten Infizierungen ist im Auge zu behalten, daſs die Protozoen in verhältnismäſsig reinen Wässern, mit welchen ich meine gegenwärtigen Versuche ausführte, nicht in der Gestalt vegetativer, sich leicht vermehrender Formen enthalten sind, sondern in der Gestalt von Zysten, d. h. Formen, welche in Ruhe verharren, mit einer dicken Membrane versehen sind, und sich im höchsten Grade widerstandsfähig gegen alle äuſseren Einflüsse erweisen. Solche Zysten von einer Art der Flagellaten Bodo ovatus kommen in jedem Wasser vor und werden sehr leicht einige Tage nach der Klärung des infizierten Wassers beobachtet. In einer gewissen Vermehrungsperiode ist eine solche Zyste von runden Keimen angefüllt. Nach ihrem Reifwerden platzt die Hülle der Zyste, und der Inhalt wird ins Wasser hinausgetragen, eine ziemlich zahlreiche Nachkommenschaft junger vegetativer Formen von Flagellaten darstellend. Die Zysten, die sich in vollständig ruhigem Zustande befinden, besitzen auſser eines groſsen Kernes und eines geringen Häufchens Körner nichts. Damit sich in solch einer ruhenden Zyste Keime bilden, ist selbstverständlich eine gewisse Zeit erforderlich, die augenscheinlich in die Inkubationsperiode der Reinigung des Wassers fällt. Weiter vermehren sich bekanntlich die vegetativen Formen der Protozoen auf dem Wege der einfachen Teilung, die man stets im Wassertropfen, in dem diese Formen vorhanden sind, beobachten kann. Die Vermehrung der Protozoen nach dem Prinzip der Teilung geht gewöhnlich sehr rasch vor sich, und es vergehen bei Zimmertemperatur von Anfang der Abschnürung bis zur vollständigen Teilung zweier junger Individuen nicht mehr als 5—10 Minuten. Da die Zahl der Zysten im reinen Wasser nicht groſs sein kann[1]), so kann die erste Generation der Protozoen, wieviel Keime auch in den Zysten vorhanden sein mögen, noch nicht zur Reinigung des

1) In unserem Leitungswasser kommen ungefähr 120 Exemplare auf 1 l Wasser.

Wassers genügen. Nur die weitere Vermehrung der vegetativen Formen sichert ihre Anhäufung im Wasser in einer solchen Menge, welche genügend ist zu seiner Reinigung von Bakterien; aber für diese Art der Vermehrung der Protozoen ist selbstverständlich wieder eine gewisse Zeit erforderlich, sei sie auch gering.

Da die bakteriziden Kräfte des Wassers nur nach Anhäufung einer genügenden Anzahl von Protozoen sich offenbaren, so liegt es auf der Hand, dafs die Inkubationsperiode der Reinigung des Wassers vor allen Dingen durch den Zustand, in welchem sich die Protozoen befinden, bedingt ist. Die Fortpflanzung der Protozoen aus den Zysten fordert mehr Zeit als die der vegetativen Formen; infolge dessen fällt auf die erste Infizierung auch die längste Inkubationsperiode. Bei wiederholten Infizierungen des Wassers begegnen die Bakterien schon schnell sich vermehrende vegetative Formen von Protozoen, und aus diesem Grunde ist die Inkubationsperiode sehr kurz, fast abwesend. Im natürlichen Zustande begegnen wir auch Wässern, welche ebenso ruhende Formen der Protozoen wie auch vegetative enthalten. Das bezieht sich auf mehr oder weniger verunreinigte Wässer. Bei der mikroskopischen Untersuchung kann man in ihnen sich bewegende geifseltragende und andere Formen von Protozoen ohne weiteres wahrnehmen, besonders wenn man zu diesem Zweck den Bodensatz oder Niederschlag nach der Zentrifugierung nimmt. Es ist daher begreiflich, dafs solche Wässer mit den hineingetragenen Bakterien schnell fertig werden und das Wasser sich oft schon in drei Tagen bei 25° C reinigt. Ein solches Wasser ist das Wasser des Embachflusses im Weichbilde der Stadt, welches aus einer Menge von Strafsen- und Hausabflufsröhren schmutziges Wasser aufnimmt.

Die Dauer der Inkubationsperiode hängt gewifs auch von einer Reihe anderer Bedingungen ab, wie z. B. die anfängliche Menge der im Wasser enthaltenen Protozoen, Temperatur des Versuches usw.

Nähere Ursachen der Vermehrung der Protozoen im Wasser unter dem Einflusse der Bakterien.

Bei der Untersuchung des Reinigungsprozesses des Wassers von Bakterien erweist es sich, wie schon angedeutet, daſs die Protozoen im Wasser nach seiner Infizierung mit Bakterien sich vermehren. Dabei rufen die bei 65° C getöteten Bakterien auch und sogar schneller eine Vermehrung der Protozoen hervor[1]. Offenbar haben wir es hier mit irgendeiner Reizung zu tun, deren Ursprung in den Bakterien zu suchen ist. Es fragt sich aber, auf welche Weise die letzteren ihren Einfluſs auf die Protozoen ausüben. Auf welche Weise reagieren die inzystierten, äuſserst widerstandsfähigen und allen äuſseren Einwirkungen sich schwer unterwerfenden Formen auf diesen Einfluſs durch die Zeugungtätigkeit? Es ist schwer, sich vorzustellen, daſs zu diesem Zweck die bloſse Anwesenheit von Bakterien im Wasser und ihr mechanischer Einfluſs auf die Zysten genügend wäre. Richtiger wäre es anzunehmen, daſs nur die in Wasser gelösten Stoffe, welche die Fähigkeit besitzen, durch die Zystenhülle zu diffundieren, den Protozoen entgegenzuwirken imstande sind. Nach dieser Annahme hätte die Reizung, welche durch die Bakterien auf die Protozoen ausgeübt wird, den Charakter einer chemischen Einwirkung auf den Protoplasmainhalt der Zysten und auch der vegetativen Formen. Die wirkenden Agentien würden in diesem Falle die Produkte des Stoffwechsels der Bakterien sein, vielleicht auch irgendwelche spezifische Stoffe, als Enzyme oder Toxine oder überhaupt Produkte der Autolyse der Bakterien, da ohne Zweifel ein groſser Teil derselben beim Übertragen ins Wasser zugrunde geht und die Bestandteile der umgekommenen Zellen durch Wasser ausgelaugt werden. Von dieser Annahme ausgehend, habe ich eine Reihe Untersuchungen ausgeführt, bei welchen ich zur Einwirkung auf die Protozoen des Wassers und

1) Vgl. meine bereits zitierte Arbeit.

zu ihrer Erregung zur Vermehrung schon nicht mehr Bakterien, sondern die filtrierten Produkte ihrer Autolyse verwandte.

Diese Produkte wurden auf folgende Weise gewonnen:

Aus einer Agarkultur wurde eine Bakterienemulsion in physiologischer Kochsalzlösung bereitet. Auf 10 ccm der Lösung kam eine Agarkultur, die von der Oberfläche eines schräg erstarrten Nährbodens mit einer Platinöse abgeschabt war. Die Bakterienemulsion wurde darauf in den Thermostat bei 37° C gewöhnlich auf 3—6 Tage gestellt und dann durch ein kleines Porzellanfilter filtriert. Das auf diese Weise gewonnene sterile und vollkommen klare Filtrat, das die gelösten Produkte der zerfallenen Bakterien enthielt, wurde in verschiedenen Quantitäten dem Wasser, welches sich in Erlenmeierschen Kolben befand, hinzugefügt, und die Kolben in den Thermostat bei 25° bis 26° C gestellt.

Das Verfahren und die einfache Beurteilung zeigen, dafs nicht jedes Wasser für derartige Untersuchungen tauglich ist. Die Ursache besteht darin, dafs in Wässern, welche eine grofse Menge organischer Stoffe und Bakterien enthalten, Bedingungen für die Vermehrung der Protozoen entstehen können ohne jegliche Hinzufügung von Bakterien oder ihrer Produkte zu denselben. Dieses geschieht deswegen, dafs bei Aufbewahrung eines solchen Wassers im Thermostat die im Wasser enthaltenen Bakterien, indem sie eine genügende Menge Nährmaterials finden, sich um soviel vermehren, dafs sie den Protozoen Veranlassung zur Vermehrung geben können. In solchen Fällen wäre es nicht möglich zu entscheiden, haben sich etwa die Protozoen durch Zusatz des Filtrats der autolysierten Bakterien oder durch Vermehrung der Wasserbakterien entwickelt. Der Versuch kann bestimmte und klare Ergebnisse nur dann geben, wenn das für denselben angewandte Wasser sehr rein ist, wenig Bakterien und organische Stoffe enthält. Das Wasser der Universitäts-Wasserleitung erwies sich als vollkommen zu derartigen Versuchen geeignet. Die Oxydierbarkeit desselben beträgt im ganzen 0,5 mg Sauerstoff auf 1 l Wasser, die Zahl der Bakterien 10—50 in 1 ccm. Beim Stehen eines solchen Wassers im

Thermostat bei 25—26° C vermehren sich die in demselben enthaltenen Bakterien aber dennoch nicht so stark, um die Keime der Protozoen zur Vermehrung zu zwingen.

Um die Möglichkeit der willkürlichen Vermehrung der Protozoen im Wasser für die Untersuchungsbedingungen auszuschliefsen, wurde jeder Versuch von einer Kontrollprüfung begleitet, d. h. gleichzeitig mit den Kölbchen, welche das Wasser mit den hinzugefügten Filtraten enthielten, wurde Wasser, wie es ist, ohne jede Beimischung einer Untersuchung unterworfen.

Aufser dieser Kontrollprüfung wurde auch noch eine andere, welche festzustellen hatte, ob das Wasser überhaupt Protozoen enthielt oder nicht, angewandt. Zu diesem Zweck wurden auf 100 ccm Wasser 3 Platinösen Agarkultur ein und derselben Bakterienart hinzugefügt, deren autolytische Produkte auf ihre Fähigkeit, die Vermehrung der Protozoen hervorzurufen, untersucht waren. Da vielfache früher ausgeführte Untersuchungen zeigten, dafs in dem Wasser der Universitäts-Wasserleitung Keime der Protozoen immer vorhanden sind, so hatte diese Kontrollprüfung nur die Bedeutung einer Vorsichtsmafsregel.

Die Kölbchen mit dem Wasser und dem Filtrat, ebenso die Kontrollkölbchen wurden täglich einer mikroskopischen Untersuchung auf das Vorhandensein der Protozoen im Wasser unterworfen, zu welchem Zweck von jeder Probe hängende Tropfen gemacht und mit dem Trockensystem untersucht wurden.

Da zur Beurteilung der Resultate des Versuches auch die eine oder andere Menge der Protozoen im Wasser Bedeutung hatte, während die genaue Bestimmung derselben bei einer solchen Aufstellung der Versuche unmöglich war, so wurde bei Untersuchung des hängenden Tropfens nach den Augen bestimmt, ob überhaupt eine grofse oder mäfsige Menge von Protozoen unter dem Mikroskop sichtbar war, oder ob auf den ganzen Tropfen überhaupt nur einige, 1—3—5 Exemplare kamen.

Der erste vorläufige Versuch der Wirkung autolytischer Produkte auf die Keime der Protozoen wurde mit dem Filtrat des Vibrio Finkler-Prior bewerkstelligt. Die Kultur wurde im

Laufe von 24 Stunden der Mazerierung unterworfen. Zu 100 ccm Wasser der Universitäts-Wasserleitung wurde das ganze von der einen Agarkultur erhaltene Filtrat hinzugefügt. Nach 3 Tagen wurden im hängenden Tropfen einzelne Exemplare von Flagellaten bestimmt. Am nächsten Tage vermehrte sich ihre Zahl stark, und darauf fing sie an, sich zu vermindern. Im Kontrollkölbchen, ohne Beimischung des Filtrats, wurden im Laufe der Untersuchungsperiode von einer Woche keinerlei Protozoen entdeckt.

Auf diese Weise zeigte dieser vorläufige Versuch, dafs die Vermehrung der Protozoen im Wasser die Gegenwart von Bakterien nicht erfordert, dazu genügen nur die Produkte ihrer Autolyse.

Diese Schlufsfolgerung, welche sich in der Folge vollkommen gerechtfertigt hat, wurde einstweilen von den Resultaten des zweiten, gleichfalls vorläufigen Versuchs, in Zweifel gesetzt. Bei diesem Versuch diente das Filtrat derselben Gattung von Bakterien; die Antolyse der Kultur aber dauerte zufällig viel längere Zeit — 14 Tage. Bei der Einwirkung auf das Wasser dieses Filtrats, welches in denselben Quantitäten wie in dem vorhergehenden Versuch genommen wurde, erfolgte im Wasser keine Entwickelung der Protozoen. Zur Erklärung des Widerspruchs in den Resultaten dieser beiden vorläufigen Versuche räumte ich die Möglichkeit der hemmenden Wirkung einer recht grofsen Menge der Produkte der Autolyse auf die Keime der Protozoen ein, weshalb eine Vermehrung derselben nicht erfolgen konnte. Die Grundlage zu dieser Annahme war die einigemal beobachtete Tatsache, dafs die Protozoen bei einem sehr reichen Wachstum der Bakterien im Wasser, welches Nährmaterial (Dekokt von Schnittkohl oder Kohlblättern) enthält, sich nicht entwickeln. Im zweiten Versuch, wo die Mazerierung der Bakterien sehr lange währte, konnten wirklich recht viele Bakterienprodukte vorhanden sein und konnten dieselben eine hemmende Wirkung auf die Keime der Protozoen ausüben. Infolgedessen wurden in den darauffolgenden Versuchen folgende zwei Bedingungen

berücksichtigt: 1. der Autolyse wurden die Bakterien im ganzen im Laufe von zwei bis fünf Tagen unterworfen; 2. gleichzeitig wurde die Wirkung verschiedener Mengen des Filtrats untersucht.

Von den Versuchen, welche nach diesem Plane und mit Beachtung der erwähnten Bedingungen ausgeführt wurden, führe ich als Beispiel folgende an:

Versuch Nr. 13.

Bac. pyocyaneus. Emulsion aus einer Agarkultur in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Autolyse im Verlauf von zweimal 24 Stunden bei 37° C. Filtration durch eine Porzellanfilter. Auf 100 ccm Wasser wurden 0,5, 1, 2 und 4 ccm des Filtrates genommen.

Kolben	Auf 100 ccm Wasser	Nach Tagen					
		1	2	3	4	5	6
A	0,5 ccm des Filtrats . .	—	—	|	+ +		
B	1,0 » » » . .	—	—	—	+ +		
C	2,0 » » » . .	—	—	|	+ +		
D	4,0 » » » . .	—	—	—	—	—	—
E	Ohne Filtrat } Kontrolle	—	—	—	—	—	—
F	3 Ösen Kultur } Kontrolle	—	—	+ +	+ +	—	

Bedeutung der Zeichen: | = einzelne Exemplare von Protozoen.
+ = viele Protozoen.
+ + = sehr viele Protozoen.
— = Abwesenheit von Protozoen.

Dieser Versuch bestätigt die Resultate des ersten vorläufigen Versuchs mit dem Vibrio Finkler-Prior. Die Produkte, welche im Bac. pyocyaneus enthalten sind, sind fähig, die Vermehrung der Protozoen im Wasser hervorzurufen. Gleichzeitig bestätigt er auch die Annahme, welche in Anlafs der Resultate des zweiten vorläufigen Versuchs ausgesprochen wurde, da die grofse Menge (im gegebenen Falle 4 ccm auf 100 ccm Wasser, Kolben D) dieser Produkte auf die Keime der Protozoen in entgegengesetzter Richtung wirkt.

Die Vermehrung der Protozoen bei der Einwirkung auf ihre Keime der im Wasser aufgelösten Produkte der Autolyse der Bakterien ist ihrer Eigenschaft nach nicht verbunden mit dieser oder jener Art von Mikroorganismen. Die Versuche zeigten, dafs die Filtrate, welche der Autolyse des Bact. coli, der Choleravibrionen und der aus dem Wasser derselben Wasserleitung abgesonderten saprophytischen Bakterien unterzogen waren, auf die Protozoen ebenso wirken wie auch die Filtrate des Finkler-Priorschen Vibrionen und des Bac. pyocyaneus.

Als Beweis führe ich folgende Beispiele an:

Versuch Nr. 14.

Bact. coli. Eine Agarkultur auf 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Autolyse im Laufe von zweimal 24 Stunden. Filtration.

Kolben	Auf 100 ccm Wasser	Nach Tagen							
		1	2	3	4	5	6	7	10
A	0,5 ccm des Filtrats . . .			—	—	|	|	|	—
B	1,0 » » » . . .			—	|	+	+	|	|
C	2,0 » » » . . .			—	—	—	—	|	|
D	4,0 » » » . . .			—	|	++	++	+	+
E	Ohne Filtrat . } Kontrolle			—	—	—	—	—	—
F	2 Ösen Kultur . } Kontrolle			—	+	+	++	++	|

Versuch Nr. 16.

Vibrio Cholerae as. isoliert aus Fäzes 1 und 1908 J). Eine Agarkultur auf 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Autolyse 6 Tage.

Kolben	Auf 100 ccm Wasser	Nach Tagen					
		1	2	3	4	5	6
A	1 ccm des Filtrats		—	—	|	+	+ +
B	2 » » »		—	—	+	+	+ +
C	3 » » »		—	|	+	+ +	+ +
D	Ohne Filtrat . . } Kontrolle		—	—	—	—	|
E	2 Ösen Kultur . } Kontrolle		—	+	++		

Versuch Nr. 30.

Das saprophytische Bakterium, welches absichtlich aus demselben Wasserleitungswasser, mit welchem alle diese Versuche ausgeführt wurden, isoliert war. Eine zweimal 24 Stunden alte Kultur auf Agar auf 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Autolyse im Laufe von fünfmal 24 Stunden.

Kolben	Auf 100 ccm Wasser		Nach Tagen				
			1	2	3	4	5
A	3,5 ccm des Filtrats		—	—	—	|	|
B	5,0 » » »		—	—	|	+	++
C	8,0 » » »		—	—	|	+	++
D	Ohne Filtrat . .	Kontrolle	—	—	—	—	—
E	3 Ösen Kultur .	Kontrolle	—	—	|	—+	++

Der Versuch 30 zeigt, daſs die Produkte der Autolyse der Wasserbakterien ebenfalls in erregender Weise auf die Keime der Protozoen wirken. Der Unterschied in der Wirkung, im Vergleich zu den vorhergehenden, hauptsächlich pathogenen Bakterien, ist nur ein quantitativer, da verhältnismäſsig groſse Mengen des Filtrats, und zwar 3,5 ccm (Kolben A), nur einen geringeren Effekt hervorrufen und sehr groſse Mengen (Kolben C) eine hemmende Wirkung auf die Protozoen nicht ausüben.

Die Aufgabe der gegenwärtigen Untersuchung umfaſste nicht die quantitative Bestimmung der Wirkung der autolytischen Produkte der Bakterien auf Protozoen. Bei dieser Frage nicht stehenbleibend, bemerke ich nur vorübergehend, daſs, nach dem Ergebnisse der Versuche zu urteilen, nicht alle von den verschiedenen Bakterien erzeugten Stoffe gleichstark auf die Protozoen einwirken. Die geringste Wirkungskraft besitzt offenbar der zum Versuch 30 angewandte Wassersaprophyt; alle anderen, wie Bac. pyocyanens, V. cholerac usw., dem Wasser fremde Bakterien geben die Produkte immer stärker wirkend auf die Protozoen. Aber die ausgeführten Versuche allein sind bei weitem nicht hinreichend um die Frage über die Wirkung der Produkte des Zerfalles der Bakterien auf die Protozoen, von der quantitativen Seite betrachtet,

zu entscheiden. Diese Frage hat indessen ein theoretisches und praktisches Interesse.

Das Grundresultat der vorhergehenden Versuche erhält für sich die Bestätigung auch noch von einer anderen Seite. Bei der Infizierung des Wassers durch Bakterien kommt bald darauf ein Teil derselben um, und die umgekommenen Zellen werden der auslaugenden Tätigkeit des Wassers unterworfen, infolgedessen die zur Aufreizung der Protozoen notwendigen Stoffe sich auflösen. Aber wenn man zum Wasser, das durch irgendwelche Bakterien infiziert ist, die besonders zubereiteten Produkte der Autolyse hinzufügt, so kann man erwarten, dafs in einem solchen Wasser die Protozoen sich früher entwickeln als im Wasser, welches nur Bakterien enthält, da in diesem letzteren Falle noch eine Zeit dazu erforderlich ist, damit die Stoffe, welche in den Bakterien vorhanden sind, ins Wasser übergehen.

Folgender Versuch zeigt tatsächlich die Richtigkeit dieser Erwägungen.

Versuch Nr. 15.

Bac. pyocyaneus. 1 Agarkultur auf 10 ccm physiolog. Kochsalzlösung. Autolyse im Laufe von 3 Tagen.

<table>
<tr><th rowspan="2">Kolbe</th><th rowspan="2">Auf 100 ccm Wasser</th><th colspan="6">Nach Tagen</th></tr>
<tr><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th><th>5</th><th>6</th></tr>
<tr><td>A</td><td>3 Ösen Bac. pyocyaneus + 4 ccm Filtrat . .</td><td></td><td>|</td><td>+ +</td><td>+ +</td><td></td><td>+</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2">klar</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>B</td><td>3 Ösen derselben Kultur ohne Filtrat . . . .</td><td></td><td>—</td><td>--</td><td>--</td><td></td><td>+</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2">trübe</td><td></td><td></td></tr>
</table>

Im Kolben A, welcher die Kultur und das Filtrat der Bac. pyocyaneus enthielt, trat die Entwicklung der Protozoen und die Klärung des Wassers um einige Tage früher ein als im Kolben B, welcher nur die Kultur derselben Bakterien allein enthielt.

Die weitere Bestätigung der Annahme über die nächstliegenden Ursachen der Vermehrung der Protozoen in dem in-

fizierten Wasser kann man auch aus den Resultaten derjenigen Versuche ersehen, bei welchen auf die Keime der Protozoen Filtrate, die zuvor erwärmt waren, wirkten. Diese Versuche wurden auf folgende Weise ausgeführt. Die nach der Autolyse der Bakterien gewonnenen Filtrate erwärmte ich im Wasserbade bei 100° C im Laufe von 20—30 Minuten und fügte sie dann dem Leitungswasser hinzu. Neben diesem wurden auch ungekochte Filtrate anderen Kolben hinzugefügt.

In der allergröſsten Mehrzahl der Fälle führte die Erwärmung der Filtrate zur Zerstörung der Stoffe, welche die Fähigkeit, die Protozoen ins Leben zu rufen, besaſsen. Die Filtrate, welche von der Autolyse des B. pyocyaneus, staph. pyog. aureus und B. coli gewonnen waren, verloren nach dem Kochen vollständig ihre Fähigkeit, die Keime der Protozoen zu reizen und dieselben zur Vermehrung zu befördern; die Filtrate von der Autolyse des Typhusbazillus bewahrten im Gegenteil auch nach dem Kochen diese Fähigkeit.

Wodurch dieser Unterschied bedingt ist, läſst sich ohne eine nähere Untersuchung schwer sagen. Es ist möglich, daſs die Bakterien der ersten Gruppe auf die Protozoen durch die von ihnen ausgearbeiteten Lysine (vielleicht gleichbedeutend mit Haemolysinen), die gegen hohe Temperaturen sehr empfindlich sind, wirken.

In jedem Falle wird durch diese Versuche noch einmal bestätigt, daſs die Bakterien auf die Protozoen nicht als solche wirken, sondern durch die in ihnen enthaltenen (bzw. abgesonderten) Stoffe, die in die Lösung geraten.

Gleichzeitig wird durch diese Versuche die Einwendung widerlegt, daſs die Protozoen bei Hinzufügung gelöster Produkte der Autolyse der Bakterien zum Wasser sich nicht infolgedessen vermehren, daſs sie auf die Protozoen in erregender Weise wirken, sondern einfach dank den organischen Stoffen, die hierbei in Lösung übergehen, und welche bei Zufügung der Filtrate zum Wasser als Nährmaterial für die Protozoen dienen.

Zum Verständnis des Selbstreinigungsprozesses des Wassers von Bakterien sind auch viele andere Details, die bei

diesen Untersuchungen nicht berührt worden sind, von groſser Wichtigkeit. Es ist möglich, daſs auch andere Stoffe, wie Säuren, Alkalien, verschiedene protoplasmatische Gifte und eine ganze Reihe von Produkten, die als Resultate der Lebenstätigkeit der Bakterien erscheinen, auf die Protozoen in derselben Weise wirken wie auch die auf dem Wege der Mazerierung der Bakterien erhaltenen Stoffe. Weiter erscheint die Frage über die Art und Weise der Wirkung der bakteriziden Elemente des Wassers von groſsem Interesse. Ungeachtet der Behauptungen Emmerichs und Huntermüllers, daſs die Bakterien einfach von den Protozoen verschlungen und in ihren Leibern verdaut werden, ist diese Frage als eine offene zu betrachten. Die Beobachtung des Prozesses, der Reinigung des Wassers von Bakterien in der Gestalt, wie er in den Kolben verläuft, gibt die Möglichkeit anzunehmen, daſs es sich hier um eine Auflösung des Inhalts der Bakterienzellen handelt, ähnlich dem, was bei der Wirkung der Hämolsyine auf die Blutkörperchen zu sehen ist.

Die Schluſsresultate der oben angeführten Untersuchungen über den Prozeſs der Selbstreinigung natürlicher Wässer von Bakterien kann man in folgende Thesen zusammenfassen;

1. Den natürlichen Wässern sind bakterizide Eigenschaften eigen, durch welche sie schnell von den in dieselben hineingetragenen Bakterien befreit werden.
2. Nur ausschliefslich seltene Quellen geben Wasser das diese Eigenschaften nicht besitzt.
3. Die bakteriziden Eigenschaften des Wassers sind mit dem Vorhandensein und der Vermehrung der Protozoen verbunden.
4. Die Reinigung des Wassers von Bakterien tritt kritisch ein nach einer gewissen Dauer der Periode, im Verlauf welcher die Entwickelung der bakteriziden Kräfte des Wassers sich vorbereitet, resp. die Vermehrung der Protozoen vor sich geht.

5. Die Vermehrung der Protozoen im Wasser geht vor sich infolge der erregenden Wirkung auf die inzystierten und vegetativen Formen ihrer im Wasser löslichen Produkte der Autolyse der Bakterien und wahrscheinlich auch der Produkte der Lebenstätigkeit der Bakterien überhaupt.

Vorkommen und Bedeutung der Streptokokken in der Milch.

Von

Joseph Baehr.

Mit Tafel I.

(Aus dem Institut für experimentelle Therapie der Düsseldorfer Akademie für prakt. Medizin. Direktor: Prof. Dr. Lubarsch.)

Das Vorkommen der Streptokokken in der Milch und die Beurteilung streptokokkenhaltiger Milch als Nahrungsmittel sind in jüngster Zeit Gegenstand der widersprechendsten Erörterungen gewesen. Die in der Literatur verzeichneten älteren Mitteilungen über das Vorkommen von Streptokokken in Milch sind nicht sehr zahlreich; die meisten hierüber vorliegenden Berichte sind jüngeren Datums.

Zuerst war es Beck[1]), welcher bei Untersuchungen der Berliner Marktmilch in 62% der untersuchten Proben Streptokokken fand.

Ferner berichtet Escherich[2]) in seiner Studie über Säuglingsenteritis im Jahre 1899: »In der Tat gelang es, in jeder der von uns untersuchten Milchproben eine allerdings sehr wechselnde Zahl gramisch färbbarer Kokken, zum Teil noch in deutlichen Ketten angeordnet, nachzuweisen, wenn wir das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment ausbreiteten und nach vorgängiger Entfettung mit unserer Färbmethode tingierten. In der Regel waren die blauen Kokken die der Zahl nach viel überwiegenden Mikroorganismen und nur wenige Stäbchen daneben sichtbar. Wir fanden die Kokken sogar in der unter besonderen Kautelen gegen

Verunreinigung von aufsengemolkenen Milch, so dafs der Gedanke nahe liegt, dieselben könnten vielleicht in ähnlicher Weise wie die Staphylokokken beim Menschen in den Milchausführungsgängen der Kühe vorhanden sein.«

H. L. Balley[3]) konnte in dem Euter einer Kuh drei Wochen lang einen Streptokokkus nachweisen, obwohl an dem Tiere nicht die Spur einer Mastitis festzustellen war.

Eastles[4]) untersuchte 185 Milchproben, welche er sich aus allen Teilen Englands, von Ärzten, Privatleuten, hygienischen Instituten, Molkereien kommen liefs, und fand in 75,2 % Streptokokken, in 15 % fand er keine und in 9,8 % war der Befund zweifelhaft.

Jäger[5]) fand in dem durch Zentrifugieren gewonnenen Milchschlamme der Königsberger Marktmilch, »dafs aufserordentlich häufig Streptokokken in der Milch vorkommen«.

Conn H. W.[6]) stellte fest, dafs in frischer Milch die Mehrzahl der Bakterien Streptokokken sind, welche in den meisten Fällen direkt aus dem Euter der Kuh herrühren. Die Zahl der Streptokokken vergröfserte sich bedeutend während der ersten 48 Stunden, um dann allmählich abzunehmen; schliefslich verschwanden die Streptokokken.

Reed und Ward[7]) unterzogen längere Zeit hindurch einer Untersuchung Milch von einer Kuh, an deren Euter keinerlei Symptome einer Entzündung sichtbar waren und fanden wiederholt Streptokokken. Dieselben waren für Meerschweinchen und Kaninchen unschädlich, indessen vermochten die Autoren durch Überimpfen dieser Streptokokken an einem gesunden Euter eine Mastitis zu erregen.

Lammeris und van Harreveld[8]) fanden in direkt dem Kuheuter entnommenen Milchproben nach abgeheilter Mastitis noch längere Zeit hindurch Streptokokken.

Bergey[9]) untersuchte 40 Marktmilchproben und fand in 50 % Streptokokken.

Romme[10]) vermutet in den Streptokokken der Milch die Urheber von Dickdarmentzündungen bei Kindern.

Das gröfste Aufsehen erregte Petruschky[11]) mit seiner in Gemeinschaft mit M. Kriebel im Jahre 1904 bekannt gegebenen Arbeit: »Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit ihrer Verhütung«.

Petruschky hat in fast allen von ihm im Zeitraum vom 30. März 1903 bis 29. Februar 1904 untersuchten Milchproben (mit einer Ausnahme: Kuhstallprobe vom 13. X. 03) Streptokokken gefunden und führt die Ursache der Sommersterblichkeit der Säuglinge auf die in ganz erheblichem numerischen Übergewichte in der Milch vorkommenden Streptokokkenmassen zurück. Alle diese Streptokokken hält er für pathogene und erklärt derartig infizierte Milch in ein »eiterähnliches Präparat« verwandelt, »ein solches Präparat eines einfachen Tröpfchens durchgeschüttelter frischer Sommermilch glich bakteriell fast genau einem Eiterpräparat, wie man es bei offener Phlegmone, Panaritium und ähnlichen Erkrankungen zu sehen pflegt: vorwiegend Kettenkokken«. Petruschky stellt dann folgenden Leitsatz auf: »Die wesentlichste Ursache der Sommersterblichkeit der Säuglinge ist die durch Einwirkung der Sommerwärme bedingte ungeheure Vermehrung der in jeder Milch enthaltenen Bakterienkeime, namentlich der am zahlreichsten darin vorhandenen Streptokokken. Eine solche Milch hat mikroskopisch eine eiterähnliche Beschaffenheit und enthält in jedem kleinsten Tröpfchen Streptokokkenketten und andere Spaltpilze. Auch durch Kochen wird die Gefährlichkeit solcher Milch für Säuglinge nicht ganz beseitigt. Später geht Petruschky in seinen Schlufsfolgerungen noch weiter. In einem in der hygienischen Sektion der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Köln im Jahre 1908 gehaltenen Vortrage erklärt er nach Mitteilung neuer Untersuchungen von Milch, welche aus Berlin, Köslin, Breslau und Leipzig stammte und nach Anführung der durch von Behring und Trommsdorf gemachten Streptokokkenbefunde in Milch euterkranker Kühe: »Damit ist die Beweiskette dafür, dafs die Milchstreptokokken aus dem Kuheuter stammen, geschlossen und zugleich auch der Beweis dafür, dafs die »Streptokokkenkühe« in Europa und Amerika sehr verbreitet sind.« Es

war sehr milde ausgedrückt, wenn ich seinerzeit nur von einer mikroskopisch eiterähnlichen Beschaffenheit der Milch sprach und damit schon Schlofsmanns Entrüstung erregte. Jetzt kann ich es sagen: »Es ist wirklicher Eiter, Eutereiter der Kuh, der in die Milch gelangt und mit ihm die Streptokokken«.

Die Ausführungen Petruschkys stiefsen auf sehr heftigen Widerstand, besonders in den Reihen der Kinderärzte.

Vor allen war es Schlofsmann[12]), welcher den Mitteilungen Petruschkys heftig widersprach und erklärte, »dafs sich Streptokokken vereinzelt in der Milch finden, ist eine bekannte Tatsache, aber keinem von uns Kinderärzten ist bisher vorgekommen, dafs er eiterähnliche Milch, abgesehen natürlich bei Mastitis, gesehen hat. Ich habe mich nun im Laufe des vergangenen Sommers mit dieser Frage eingehend beschäftigt und auch in der wenig appetitlichen Milch nichts von solchen Streptokokkenmassen gefunden. Es gibt also nur zwei Möglichkeiten, um die Mitteilungen Petruschkys zu erklären: Entweder es herrschte zur Zeit als er seine Untersuchungen anstellte, in der Umgebung von Danzig unter den Kühen eine verbreitete infektiöse Mastitis, oder aber, und das scheint mir das Wahrscheinlichere, Petruschky ist einem Irrtume zum Opfer gefallen, der allerdings nicht so fernliegend erscheint. Ich habe nämlich gefunden, dafs die Milchsäurebakterien unter bestimmten Bedingungen eine Involutionsform zeigen, in der sie täuschend Streptokokken in ihrem Wachstum ähneln. Ich habe unter anderen zwei tüchtigen Bakteriologen Präparate solcher Kulturen vorgelegt, und beide waren der Meinung, es handle sich um Streptokokkenketten. Bei eingehenderer Prüfung kann man aber zwischen je zwei nebeneinanderliegenden Kokken einen ungefärbten Teil erkennen und bei geeigneter Weiterzucht kommt die alte Stäbchenform und die Eigenschaft, intensiv Säure zu produzieren, wieder zum Vorschein. Von wirklichen Streptokokken ist in der Milch aber nur selten etwas zu finden.«

Auch Seiffert[13]) bezweifelt die Richtigkeit des Petruschkyschen Standpunktes und erklärte: »Allerdings findet man in manchen, nach meinen Erfahrungen übrigens nicht zahlreichen

Milchproben neben Streptokokken auch Leukozyten, und was mir besonders verdächtig erschien, auch Phagozyten. Aber bei der vorläufig, abgesehen von der Escherichschen Streptokokkenenteritis, noch recht zweifelhaften Rolle, die der Streptokokkus nach unseren kinderärztlichen Erfahrungen in der Ätiologie der Darmerkrankungen des Säuglings zu spielen scheint, mufs man wohl die von Petruschky beliebte Erweiterung des Begriffs Streptokokkus in »Streptococc. pyogenes oder pathogenes« zurückweisen, solange nicht tiefer eindringende Untersuchungen vorliegen.«

Rullmann und Trommsdorf[14]) geben an, stets dann im Bodensatz der Milch Streptokokken gefunden zu haben, wenn bei der von ihnen angegebenen Leukozytenprobe das Sediment 1 Vol. ‰ überstieg. Solche Milch wurde in den meisten Fällen als von einer mastitiskranken Kuh herrührend befunden und immer ging dann neben hohem Leukozytengehalt der Milch auch ein hoher Streptokokkengehalt einher.

Sie untersuchten in München Kühe aus 4 Ställen und fanden mastitiskrank:

in	Stall	I	unter	37	Kühen	10 = 27 %
»	»	II	»	66	»	8 = 12 »
»	»	III	»	75	»	3 = 7 »
»	»	IV	»	82	»	16 = 9,5 »

Von Behring[15]) berichtet von sog. Kokkenkühen, welche ungeheure Streptokokken- und Staphylokokkenmassen aus dem Euter ausscheiden, ohne dafs man den Tieren oder ihrem Euter irgend etwas anmerkt.

Kaiser[16]) untersuchte 30 Milchproben aus Graz und dessen Umgebung und fand in 76,6 % Streptokokken.

Von einzelnen der nachgenannten Untersucher wurden zur Entscheidung der Frage, ob es sich bei den in der Milch gefundenen Streptokokken — wie Petruschky annimmt — um pathogene handele, folgende Resultate festgestellt:

Brüning[17]) fand in 93 % der von ihm untersuchten Leipziger Marktmilchproben durch die Kultur Streptokokken. Von

diesen war nur ein Stamm bei intraperitonealer Injektion für Mäuse virulent.

Müller[18]) fand unter 11 aus Milch gewonnenen Streptokokkenstämmen 7, welche mit spezifischem Immunserum bis zur Verdünnung 1:15 agglutiniert wurden. Unter diesen 7 Stämmen waren aber nur 3, welche noch von stark verdünntem Serum (1:400—800) in typischer Weise agglutiniert wurden und hämolytische Wirkung zeigten.

Baumann[19]) isolierte nach Petruschky 13 Streptokokkenstämme aus der Milch und stellte fest, dafs dieselben auf Schottmüllerschem Blutagar keine Hämolyse bildeten, im Gegensatz zu allen aus pathologischen Flüssigkeiten gewonnenen.

Nieter[20]) hat 65 Streptokokkenstämme untersucht und gefunden, dafs die aus Milch gewonnenen keine oder nur undeutliche Hofbildung auf Schottmüllerschem Blutagar zeigten.

Anderseits ist schon im Jahre 1903 von Kruse darauf aufmerksam gemacht worden, dafs die erheblich überwiegende Mehrzahl der in der Milch vorkommenden Säurebildner, die bisher unter dem Namen Bact. lactis acidi. (Leichmann) bekannt waren, ihrem morphologischen Verhalten nach viel mehr Kettenkokken wie Stäbchen entsprachen; er schlägt daher vor, diese Kettenkokken mit dem Namen »Streptococc. lact.« zu bezeichnen. Dieser Streptococc. lact. sei identisch mit dem Bact. lact. acidi. (Leichmann.) Am nächsten verwandt sei er mit dem Streptococc. lanceolatus, dem Pneumoniecoccus.

»Seine Gestalt, seine Neigung zur Kettenbildung, seine färberischen Eigenschaften (Gram), sein Verhalten zu den Nährböden, auch zur Milch sind im wesentlichen die gleichen.

Unterschiede liegen darin, dafs das Milchsäurebakterium auch bei niederer Temperatur wächst und, soweit bisher bekannt, keine Krankheiten bei Tieren und Menschen verursacht. Die etwas ovale, manchmal sogar deutlich stäbchenartige, an dem Ende zugespitzte Form der Milchsäurebakterien findet sich bei dem Pneumoniekokkus genau in derselben Weise wieder . . . .

»Selbstverständlich ist der Streptococcus lact. in ähnlicher Weise der Variabilität unterworfen wie der Streptococc. pyogenes

und lanceolatus, der Bacillus aerogenes usw. Unter mehreren Dutzend Stämmen, die ich aus saurer Milch isoliert habe, sind einige, die in Gelatine fast so schlecht wachsen wie der Pneumoniekokkus, andere, die Milch nur sehr langsam zur Koagulation bringen oder nicht so viel Säure bilden, dafs eine Gerinnung erfolgt; bei einzelnen herrscht die Stäbchen-, bei anderen die Kokkenform vor.«

Heinemann[22]) fand, dafs der Streptococcus lact. im allgemeinen unter normalen Bedingungen harmlos ist, aber pathogen werden kann, wenn man ihn durch Kaninchen schickt.

Auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Schlofsmann habe ich zur Entscheidung der Frage, ob auch in der aus Düsseldorf und Umgebung stammenden Milch sich in ähnlicher Häufigkeit, wie von anderer Seite beschrieben, Streptokokken nachweisen liefsen, nach der bewufsten Richtung hin während der Monate Februar, März und April täglich eine gröfsere Anzahl Milchproben untersucht. Ich arbeitete nach der von Petruschky und Pusch benutzten Methode zur Feststellung des »Thermophilon-Titers« als Mafsstab bakterieller Verunreinigung, d. h. derjenigen durch Verdünnungen ermittelten geringsten Menge von Milch, in welcher noch bei Brutwärme wachsende Bakterien vorhanden sind. Um die Milch zu verdünnen, nahm ich 3—4 sterile Erlemeyer-Kölbchen und gab in jedes 50 ccm sterilisierten, destillierten Wassers. Die so mit Wasser gefüllten Kölbchen wurden zur Vorsicht nochmals im Autoklaven sterilisiert, und nach ihrer Abkühlung wurden in Kölbchen Nr. 1 von der zu untersuchenden Milchprobe 0,5 ccm mittels graduierter steriler Pipette hineingelassen. Das Kölbchen wurde dann geschüttelt und so Wasser mit hinzugefügter Milch gründlich vermischt. In dem Kölbchen befand sich daher eine Verdünnung der Milch im Verhältnis 1:100. Von dieser Lösung wurden nun 0,5 ccm in ein zweites Kölbchen mit 50 ccm Wasser hineingegeben und so in Kölbchen Nr. 2 eine zweite Verdünnung 1:100 hergestellt, so dafs dieses Kölbchen nun eine Verdünnung von 1:10000 ($= 1:10^4$) der ursprünglichen Milch enthielt. In derselben Weise wurden dann noch die Verdünnungen $1:10^6$ und ev. $1:10^8$ hergestellt.

Von den so zubereiteten Verdünnungen der Milch wurden dann mindestens zwei abgemessene Mengen, und zwar 1 ccm und 0,1 ccm, in mit steriler Nährbouillon gefüllte Probierröhrchen hineingelassen, welche dann sofort in den Brutschrank gebracht und hier bei 37° aufbewahrt wurden. Die acht mit Milch beschickten Bouillonröhrchen enthielten dann der Reihe nach

$$\frac{1}{10^2} \quad \frac{1}{10^3} \quad \frac{1}{10^4} \quad \frac{1}{10^5} \quad \frac{1}{10^6} \quad \frac{1}{10^7} \quad \frac{1}{10^8} \quad \frac{1}{10^9}$$

der ursprünglichen Milch.

Nach 24—48 stündigem Aufenthalte der Bouillonröhrchen im Brutschrank untersuchte ich dann deren Inhalt mikroskopisch und machte von der Bouillon des letzten der angegangenen Röhrchen Aussaat auf Agarplatten, welche bei 37° aufbewahrt wurden.

Aufserdem benutzte ich bei meinen Untersuchungen die Trommsdorffsche Zentrifugiermethode zur Bestimmung des Leukozytengehaltes der Milch und erleichterten Ermittelung euterkranker Kühe. Es wurden in Zentrifugiergläschen, welche am unteren Ende kapillar ausgezogen sind, 10 ccm Milch 5 Minuten lang in einer gutlaufenden Zentrifuge (etwa 1200 Umdrehungen) ausgeschleudert, wobei eventuell vorhandene Zellen, meist Leukozyten, sich als gelblicher Bodensatz absetzen, dessen Volumen an einer Graduierung Marke 1 = 1 Vol. ‰, Marke 2 = 2 Vol. ‰ abgelesen wurde. Bei den von mir benutzten Gläschen war jede der Marken nochmals in $^1/_{10}$ eingeteilt, Marke 0,1 = 0,1 Vol. ‰.

Das beim Zentrifugieren gewonnene Sediment wurde nach Färbung des Präparates mit Methylenblau und ebenso der Rahm nach Entfettung und Färbung des Präparates mit Methylenblau mikroskopiert.

Milchprobe Nr. 1.

Milch aus der Kinderklinik der städtischen Krankenanstalten Düsseldorf.

Probe a: Untersuchung sofort nach der Einlieferung.

Mikroskopische Besichtigung der Milch im hängenden Tropfen: Vereinzelte Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ Sediment, graugelb, enthält Leukozyten, wenige Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Wenige Stäbchen, Kokken und Streptokokken; Restbestandteile von Zellen und vereinzelte Leukozyten. Zur Feststellung der Keimzahl wurde je 1 Agarplatte gegossen mit 1,0 und 0,1 ccm der 1:10 mit aqua destill. steril. verdünnten Milch und die Zahl der Keime nach Aufenthalt von zweimal 24 Stunden bei 37° gezählt.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Stark getrübt, viel Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwach getrübt, wenig Bodensatz	do.
1 : 10⁴	1,0	Klar.	Steril.
	0,3	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁶	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁸	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 8000.

Probe b: Untersuchung nach 6stündigem Aufenthalte der Milch in Temperatur von 22°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Stark getrübt, viel Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁴	1,0	do.	do.
	0,3	Schwache Trübung, wenig Bodensatz	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz	Streptokokken.
1 : 10⁶	1,0	Klar.	Steril.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁸	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf den mit Milchprobe Nr. 1, Probe a, Bouillon (Verdünnung $1:10^3$) und mit Milchprobe Nr. 1, Probe b, Bouillon (Verdünnung $1:10^5$) beschickten Agarplatten waren nach 24 Stunden zwei verschiedene Arten von Kolonien aufgegangen, welche sich auf jeder Platte feststellen liefsen. Die eine Art bestand aus stecknadel-

kopfgrofsen, opaken, runden Kolonien mit scharfem Rande. welche sich im Ausstrichpräparate als Stäbchen erwiesen.

Die zweite Art waren mit blofsem Auge kaum sichtbare, punktförmige Kolonien, welche bei zehnfacher Vergröfserung unter der Lupe diffus graubläulich und bei 50facher Vergröfserung weifs durchscheinend, mit meist aufgefasertem Rande erschienen; sie zeigten eine punktierte, zum Teil auch lockige Struktur.

Mikroskopisch erwiesen sie sich als kurze Ketten von Diplokokken, die im allgemeinen eine lanzettförmige, dem Pneumokokkus aufserordentlich ähnliche Form zeigten; neben diesen fanden sich aber in derselben unter dem Mikroskop isoliert abgestochenen Kolonie Ketten mehr kugeliger, dicht aneinandergelagerter und dadurch dem Streptococcus pyogenes äufserst ähnlicher Kokken und aufserdem noch Übergangsformen zwischen den beiden Typen. Nach 48stündigem und noch längerem Aufenthalte im Brutschranke nahmen die kleinen Kolonien auf der Agarplatte nur wenig an Ausdehnung zu.

Beim Züchten derselben in Bouillon trat in dieser nach 24 Stunden ein krümeliger Bodensatz auf, über welchem die Bouillon klar blieb.

Mikroskopisch bestand dieser Bodensatz aus langen, teilweise zu dichten Knäueln verschlungenen Ketten von Diplokokken, die im Gegensatz zu den auf Agar gewachsenen durchweg ausgesprochene Lanzettform zeigten; dabei liefs sich regelmäfsig zwischen den einzelnen Paaren ein auffallend grofser Zwischenraum erkennen. Bei weiterem Wachstum auf Agar zeigten die Streptokokken die ausgesprochene Neigung, Jnvolutionsformen zu bilden. Sie verloren dabei mehr und mehr den Charakter typischer Diplokokken, stellten sich vielmehr als stäbchenartige, keulenförmige und kolostridiumähnliche Gebilde dar.

Im Gegensatz dazu behielten sie in der Bouillon ihre ursprüngliche Form konstant bei.

Die in dieser Milch gefundenen Streptokokken sind also nach der Form des Wachstums und nach der Neigung, In-

volutionsformen zu bilden, als Streptococc. lact. Kruse anzusehen.

Nunmehr untersuchte ich die Einzelmilchen von Kühen aus dem unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Schlofsmann stehenden Musterstalle des »Vereins für Säuglingsfürsorge für den Regierungsbezirk Düsseldorf«. Der Bestand besteht aus ausgesuchten unter stetiger, sachverständiger Kontrolle gehaltenen Tieren, welche eine sichere Gewähr für ausgezeichneten Gesundheitszustand bieten. Die Haltung und Pflege derselben ist eine peinlichst saubere und ebenso auch der Hergang der eigentlichen Milchgewinnung. Letztere wird getätigt im besonderen aufserhalb des eigentlichen Stalles sich befindlichen Melkraume nach vorhergegangener Abwaschung der Euter im sog. Baderaume. Vor dem Melken der einzelnen Kuh hat der Melker jedesmal seine Hände zu waschen. Nachdem die ersten Züge aus den Zitzen in ein besonderes Gefäfs weggemolken waren, wurde aus der in oben beschriebener Weise präparierten Kuh, deren Schweif durch eine Schweifklemme fixiert war, Milch in sterilisierte, kurz vorher flambierte Erlemeyersche Kölbchen hineingemolken, welche dann sofort wieder durch Watte verschlossen wurden.

Milchprobe Nr. 2 von Kuh 9.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Probe a: Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig wolkiger Bodensatz	Stäbchen, zahlreiche Streptokokken in langen Ketten.
	0,1	Klar.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 400.

Probe b: Aussaat nach 24stündigem Aufenthalt der Milch bei 20°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel krümeliger Bodensatz	Stäbchen, zahlreiche Streptokokken in langen Ketten.
	0,1	Trübung, viel krümeliger Bodensatz	Stäbchen, Diplokokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Schleier, wenig Bodensatz	Streptokokken in Reinkultur.
	0,1	Klar.	Steril.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10^8	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Probe a Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte nach 48stündigem Aufenthalte bei 37° Kolonien von Stäbchen und von Streptococc. lact.

Auf der mit Probe b Bouillon (1 : 10^4) beschickten Agarplatte Kolonien von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 3 von Kuh 8.

Untersuchung sofort nach der Einlieferung.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: Kaum sichtbarer gelblicher Bodensatz unter 0,1 Vol. ‰, welcher Leukozyten und vereinzelte Kokken und Diplokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Kokken.

Probe a: Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schleier, wenig Bodensatz	Kokken, Diplokokken.
	0,1	Klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 450.

Probe b: Aussaat nach 6stündigem Aufenthalte der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Stark getrübt, viel krümeliger Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,3	Schwach getrübt, wenig krümeliger Bodensatz	do.
	0,1	Klar.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Probe a Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte nach 48 Stunden keine Streptokokkenkolonien.

Auf der mit Probe b Bouillon (0,3 : 10^2) beschickten Agarplatte nach 48 Stunden keine Streptokokkenkolonien.

Milchprobe Nr. 4 von Kuh 7.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, wenig Stäbchen, Diplokokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen.

Probe a: Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Leichte Trübung, wenig wolkiger Bodensatz	Sarzine, Streptokokken.
	0,3	Klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 200.

Probe b: Aussaat nach 6stündigem Aufenthalt der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Starke Trübung, viel krümeliger Bodensatz	Stäbchen, Sarzine, Streptokokken.
	0,1	Gleichmäfsige Trübung, viel krümeliger Bodensatz	Kokken, Streptokokken.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodens.	Steril.
	0 1	do.	do.
1 : 10⁶	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Probe a Bouillon (1 : 10²) und auf der mit Probe b Bouillon (1 : 10²) besäten Agarplatte nach 48 Stunden Kolonien von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 5 von Kuh 6.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. °/₀₀ rotgelbes Sediment, welches keine Bakterien enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Diplokokken.

Aussaat in Bouillon sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Leichter Schleier, wenig Bodensatz	Streptokokken, Diplokokken, Stäbchen.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10⁴	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁶	1,0	do.	do.

Keimzahl: 200.

Auf der mit Bouillon (1 : 10²) beschickten Agarplatte: Kolonien von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 6 von Kuh 5.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 1,3 Vol. °/₀₀ gelbweifser Bodensatz, welcher Leukozyten, aber keine Bakterien enthält.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Aussaat in Bouillon sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Schleier, wenig krümeliger Bodensatz	Stäbchen, Streptokokken.
	0,3	do.	Streptokokken in Reinkultur.
	0,1	Klar, kein Bodensatz	Steril.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 400.

Auf der mit Bouillon (0,3 von $1:10^2$) beschickten Agarplatte: Kolonien von Streptococc. lact.

Da das beim Zentrifugieren erhaltene Sediment die hohe Marke 1,3, erreichte so untersuchte ich noch die aus jedem Viertel entnommene Einzelmilch.

Ergebnis des Zentrifugierens:

I. Milch aus dem rechten vorderen Viertel:
1,6 Vol. ‰ gelbes Sediment.

II. » » » » hinteren Viertel:
0,1 Vol. ‰ gelbes Sediment.

III. » » » linken » Viertel:
0,1 Vol. ‰ rötliches Sediment.

IV. » » » » vorderen Viertel:
0,5 Vol. ‰ graugelbes Sediment.

Im Sedimentpräparate der Milch Nr. I keine Bakterien.
» Rahm » » » I » »
» Sediment » » » II » »
» Rahm » » » II » »
» Sediment » » » III » »
» Rahm » » » III » »
» Sediment » » » IV » »
» Rahm » » » IV » »

Aussaat in Bouillon wurde nur gemacht von den beiden Milchen mit hoher Sedimentmarke, also von Milch Nr. I und Milch Nr. IV.

Aussaat geschah nach 2stündigem Aufenthalte der Milch bei 20°.

Milch Nr. I.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Leichte Trübung, viel Bodensatz	Stäbchen, Streptokokken.
	0,3	Leichte Trübung, wenig Bodensatz	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($0,3:10^2$) beschickten Agarplatte: Kolonien des Streptococc. lact.

Milch Nr. IV.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz	Stäbchen, Streptokokken.
	0,3	Schleier, wenig Bodensatz	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($0,3:10^2$) besäten Agarplatte: Streptococc. lact.

Die Milch dieser Kuh V, bei welcher nach Trommsdorf, wegen der beim Zentrifugieren erhaltenen hohen Sedimentmarke, der Verdacht auf chronische Mastitis bestand, bei welcher aber trotz sorgfältiger Untersuchung keine Abnormität am Euter festzustellen war, zentrifugierte ich nach 4 Wochen nochmals und erhielt dann einen gelbgrauen Bodensatz, welcher nur die Marke 0,3 erreichte. In diesem Falle, dessen Vorkommen auch von Trommsdorf beobachtet wurde, bestand also kein Parallelismus: Leukozyten, Streptokokken und die Menge der Leukozyten blieb keineswegs eine konstante.

Milchprobe Nr. 7 von Kuh 3 (Kuh 4 steht trocken).

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,5 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, vereinzelte Stäbchen, Kokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Diplokokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 600.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte befinden sich neben Kolonien von Stäbchen und Kokken zahlreiche Kolonien des Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 8 von Kuh 2.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 1,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, vereinzelte Kokken und Diplokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz	Kokken, Diplokokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 350.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Kolonien des Streptococc. lact.

Mit Rücksicht auf die hohe Sedimentmarke 1,2 entnahm ich aus den einzelnen Vierteln je eine Milchprobe und zentrifugierte.

I.	Milch	aus	dem	r. v.	Viertel:	0,3	Vol.	‰	gelbes	Sediment.
II.	»	»	»	r. h.	»	0,1	»	»	graugelbes	»
III.	»	»	»	l. h.	»	0,2	»	»	gelbes	»
IV.	»	»	»	l. v.	»	0,9	»	»	»	»

Von Milch Nr. IV wird nach zweistündigem Aufenthalte derselben bei 20° Aussaat in Bouillon gemacht.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz	Kokken, Diplokokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($1:10^2$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Bei dem nach einem Zeitraume von 4 Wochen nochmals vorgenommenen Zentrifugieren der Sammelmilch von Kuh 2 erreichte der Bodensatz nur die Marke 0,3.

Milchprobe Nr. 9 von Kuh 1.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ Sediment, welches Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Gleichmäßige Trübung, wenig Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 640.

Auf der mit Bouillon ($1:10^2$) beschickten Agarplatte: Kolonien von Stäbchen, Kokken und von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 10 von einer Eselin aus dem Musterstalle des Vereins für Säuglingsfürsorge des Regierungsbezirks Düsseldorf.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ grauweifses Sediment, welches Leukozyten, Kokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schleier, wenig Bodensatz	Kokken, Streptokokken.
	0,3	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 200.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Kolonien von Kokken und von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 11 von einer Büffelkuh aus dem Stalle des Vereins für Säuglingsfürsorge, Düsseldorf.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ Sediment, welches Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen und Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,3	do.	do.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 6000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Kolonien von Kokken und von Streptococc. lact.

Als Resultat dieser an 11 Milchproben vorgenommenen Untersuchungen ist anzugeben, dafs bei 10 Proben Streptococc. lact. gefunden wurden und in keinem Falle Streptococc. pyogenes.

Nunmehr untersuchte ich noch 50 Milchproben von 50 Kühen des Rittergutes H. H. in H. Dieser Stall betreibt die Herstellung von erstklassiger Kindermilch und ist nach durchaus modernen Gesichtspunkten eingerichtet und geleitet. Jede Kuh wird vor ihrer Einstellung einer durch mich ausgeübten genauen Untersuchung unterzogen und aufserdem noch von mir einmal wöchentlich kontrolliert. Ebenso steht das Melkpersonal unter ärztlicher Aufsicht. Die Milch wurde nicht in einem besonderen Melkraume, sondern im Stalle selbst nach voraufgegangener Abreibung des Euters mittels trockenen, sauberen Tuches und nach Wegspritzung der ersten Züge aus den Zitzen in meinem Beisein in sterile Fläschchen gemolken. Die nicht untersuchten Kühe waren zur Zeit zum gröfsten Teil hochtragend und nicht milchergiebig.

Milchprobe Nr. 12 von Kuh 1.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, vereinzelte Kokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Kokken und Streptokokken.

Probe a: Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,3	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz	do.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2000.

Probe b: Aussaat nach 6 stündigem Aufenthalte der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
1 : 10^4	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Die mit Bouillon Probe a (1 : 10^3) beschickte Agarplatte enthält Kolonien von Streptococc. lact.

Die mit Bouillon Probe b (1 : 10^4) beschickte Agarplatte enthält Kolonien von Stäbchen, Kokken und von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 13 von Kuh 2.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ grauweifses Sediment, welches Leukozyten, aber keine Bakterien enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Kokken und Diplokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodenstz.	Kokken, Diplokokken.
	0,3	Starke Trübung, wenig Bodensatz	do.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz	do.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 8000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Kolonien von Kokken und Diplokokken.

Milchprobe Nr. 14 von Kuh 3.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ grauweifses Sediment, welches keine Bakterien enthält.

Im Rahmpräparate: Wenig Kokken, Diplokokken und Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 400.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Kolonien von Stäbchen, Kokken und Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 15 von Kuh 4.

Kuh 4 steht seit ca. zwei Monaten auf meine Anordnung hin in einem separaten Stalle. Das Tier wurde vor zwei Monaten euterkrank: Mastitis am linken Hinter- und Vorderviertel. Die Affektion des linken Hinterviertels war eine sehr erhebliche und nahm einen chronischen Verlauf. Es blieb eine deutlich sichtbare Schwellung und Verhärtung dieses Viertels bestehen, und das aus ihm abgeschiedene Sekret blieb rötlichbraun. Das linke Vorderviertel dagegen befand sich in scheinbar abgeheiltem Zustande. Trotz genauer Betrachtung und Abtastung war eine Abnormität resp. eine krankhafte Veränderung an dem Viertel nicht mehr nachweisbar; die aus ihm gewonnene Milch erschien makroskopisch gesund.

Die aus den drei scheinbar gesunden Vierteln gewonnene Milch wurde nicht verkauft, sondern in gekochtem Zustande an Schweine verfüttert. Die Untersuchung der aus dem erkrankten linken hinteren Euterviertel gewonnenen Milch ergab folgendes Resultat:

Im mikroskopischen Präparate: Zahlreiche langgeschwungene Streptokokkenketten, polymorphnukleäre Leukozyten mit fragmentierten Kernen und dazwischen mit Ketten vollgestopfte Phagozyten.

Ergebnis des Zentrifugierens: 1,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten und zahlreiche Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Lange, schön geschwungene Streptokokkenketten.

Aussaat in Bouillon sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel wolkiger Bodensatz	Streptokokken, Stäbchen.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	Schleier, viel Bodensatz	do.
	0,1	Bouillon klar, wen. Bodensatz	do.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bodensatz aus Bouillon ($1:10^5$) beschickten Agarplatte: Zahlreiche, weifse, kleine, runde Kolonien, welche bei 50 facher Vergröfserung einen scharfen Rand haben, gelb durchscheinen und zart punktiert sind.

Mikroskopisch erweisen sie sich als Streptococc. pyogenes.

Nunmehr untersuchte ich die Sammelmilch aus den drei anderen Vierteln.

Mikroskopisch zahlreiche Streptokokken und Phagozyten nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 1,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Phagozyten, Streptokokken, Stäbchen und Diplokokken enthält.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel wolkiger Bodensatz	Streptokokken, Diplokokken, Stäbchen.
	0,1	Schwache Trübung, viel wolkiger Bodensatz	do.
$1:10^4$	1,0	Schleier, viel Bodensatz	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, viel Bodensatz	do.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Die mit Bouillon ($1:10^5$) beschickte Agarplatte enthält zahlreiche Kolonien von Streptococc. pyogenes und weniger zahlreiche Kolonien von Streptococc. lact.

Jetzt entnahm ich aus jedem der drei Euterviertel je eine Einzelmilchprobe.

Milch Nr. 1 aus dem linken vorderen Viertel.

Makroskopisch hat die Milch ein durchaus normales Aussehen.

Mikroskopisch sind in ihr Streptokokken, Leukozyten und Phagozyten nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 1,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Phagozyten und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Streptokokken, Leukozyten und Phagozyten.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäſsige Trübung, viel wolkiger Bodensatz	Zahlreiche Streptokokken, Stäbchen.
	0,1	Schwache Trübung, viel Bodensatz	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, viel Bodensatz	do.
	0,1	do.	do.
1 : 10^6	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bodensatz aus Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte zahlreiche Kolonien von Streptococc. pyogenes. Die auf Schottmüllerschen Blutagar gebrachten und gewachsenen Kolonien zeigen keine Hofbildung.

Die in sterilisierte Milch gepflanzten Kolonien bringen die Milch erst nach 72 Stunden zur Gerinnung.

Milch Nr. 2 aus dem rechten vorderen Euterviertel.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Stäbchen, Diplokokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen, Diplokokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäſsige Trübung, wenig Bodensatz	Stäbchen, Diplokokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz	do.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Diplokokken und Streptococc. lact.

Milch Nr. 3 aus dem rechten hinteren Euterviertel.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Stäbchen und wenig Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz	Stäbchen, Diplokokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
1 : 10⁴	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon (1 : 10²) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken und Streptococc. lact.

Es war also bei Kuh IV die aus den drei scheinbar gesunden Eutervierteln gewonnene Milch durch solche aus dem linken Vorderviertel mit Streptococc. pyogenes infiziert worden.

Milchprobe Nr. 16 von Kuh 5.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ rötliches Sediment, welches Leukozyten und vereinzelte Stäbchen enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10⁴	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 800.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 17 von Kuh 7 (Kuh 6 steht trocken).

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: Sediment, unter Marke 0,1, enthält keine Bakterien.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 700.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 18 von Kuh 8.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Streptokokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Stäbchen, Kokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
1 : 10^4	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 12000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^4) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 19 von Kuh 10.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen, Kokken und Streptokokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ Sediment, welches Leukozyten, Kokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
1 : 10^4	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10^6	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 30000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^5) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 20 von Kuh 12.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,5 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Stäbchen und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen und Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schwache Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1200.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken und Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 21 von Kuh 13.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ grauweifses Sediment, welches Leukozyten, Kokken und Streptokokken enthält.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10⁴	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 600.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 22 von Kuh 14.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Kokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, welches Leukozyten, Kokken, Diplokokken und Stäbchen enthält.

Im Rahmpräparate: Stäbchen und Kokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10⁴	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 400.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken. Keine Kolonien von Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 23 von Kuh 15.

Mikroskopisch wenig Stäbchen, Kokken und Streptokokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, wenig Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Wenig Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10^4	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
1 : 10^6	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 80 000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^5) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 24 von Kuh 16.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: Unter 0,1 Vol. ‰, Sediment enthält keine Bakterien.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 500.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 25 von Kuh 17.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. $^0/_{00}$ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1400.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 26 von Kuh 18.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. $^0/_{00}$ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, vereinzelte Kokken und Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Kokken, Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 800.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 27 von Kuh 20.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Gleichmäſsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1500.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 28 von Kuh 21.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ rotbraunes Sediment, enthält keine Bakterien.

Im Rahmpräparate: Wenig Kokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Starke Trübung, weiſs. Häutchen, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Bouillon klar, wenig Bodensatz.	Kokken, Diplokokken.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1200.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Kokken und Diplokokken.

Milchprobe Nr. 29 von Kuh 23.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ braungelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2000.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 30 von Kuh 27.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: Unter 0,1 Vol. ‰ rötliches Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1200.

Ergebnis des Kulturverfahrens auf der Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 31 von Kuh 28.

Mikroskopisch Stäbchen und Diplokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen, Kokken und Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, kein Bodensatz.	Diplokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1400.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Stäbchen und Diplokokken.

Milchprobe Nr. 32 von Kuh 29.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ gelbbraunes Sediment, enthält Leukozyten und vereinzelte Stäbchen.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 400.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 33 von Kuh 30.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ gelbes Sediment, enthält Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1600.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 34 von Kuh 32.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1400.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 35 von Kuh 34.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält keine Bakterien.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 800.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 36 von Kuh 36.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graues Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Spärliche Stäbchen und Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1600.

Auf der mit Bouillon ($1:10^3$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 37 von Kuh 37.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,5 Vol. ‰ braungelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1700.

Auf der mit Bouillon ($1:10^3$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 38 von Kuh 39.

Mikroskopisch wenig Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 4600.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Kokken, Streptocoec. lact.

Milchprobe Nr. 39 von Kuh 41.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: Unter 0,1 Vol. ‰ rötliches Sediment, enthält keine Bakterien.

Im Rahmpräparate: Keine Bakterien.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2200.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 40 von Kuh 42.

Mikroskopisch spärliche Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 3400.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 41 von Kuh 43.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Diplokokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Diplokokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 3700.

Auf der mit Bouillon ($1:10^3$) beschickten Agarplatte: Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 42 von Kuh 44.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, viel Bodensatz.	do.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1500.

Auf der mit Bouillon ($1:10^3$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 43 von Kuh 45.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, viel Bodensatz.	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 44 von Kuh 46.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ rotbraunes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen und Kokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1600.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 45 von Kuh 48.

Mikroskopisch spärliche Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: Unter 0,1 Vol. ‰ Sediment, enthält Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Kokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen und Kokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Gleichmäfsige Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1800.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^2) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 46 von Kuh 49.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Geringe diffuse Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, Spur von Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1200.

Auf der mit Bouillon ($1:10^2$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 47 von Kuh 50.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,6 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Kokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen und Kokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Geringe diffuse Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken.
	0,1	Schleier, kein Bodensatz.	do.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1700.

Auf der mit Bouillon ($1:10^2$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken.

Milchprobe Nr. 48 von Kuh 51.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,5 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Spärliche Stäbchen, Kokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2500.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 49 von Kuh 52.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ gelbliches Sediment, enthält Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Vereinzelte Stäbchen, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, viel Bodensatz.	do.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1500.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 50 von Kuh 53.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, spärliche Stäbchen und Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Spärliche Stäbchen und Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schwache diffuse Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2700.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^3) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 51 von Kuh 55.

Mikroskopisch Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10³	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1400.

Auf der mit Bouillon (1 : 10³) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 52 von Kuh 56.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, vereinzelte Stäbchen und Kokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10³	1,0	Gleichmäfsige Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1600.

Auf der mit Bouillon (1 : 10³) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 53 von Kuh 57.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, wenig Stäbchen und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1200.

Auf der mit Bouillon ($1:10^3$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 54 von Kuh 58.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ rötliches Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^4$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1400.

Auf der mit Bouillon ($1:10^3$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 55 von Kuh 60.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, wenig Stäbchen, Kokken und Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Wenig Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
$1:10^4$	1,0	Schleier, kein Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^6$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 11000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^4$) beschickten Agarplatte: Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 56 von Kuh 61.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen, Kokken und Streptokokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,6 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
1 : 10^4	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 15000.

Auf der mit Bouillon (1:10^4) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 57 von Kuh 62.

Mikroskopisch vereinzelte Stäbchen, Kokken u. Diplokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 18000.

Auf der mit Bouillon (1:10^4) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 58 von Kuh 63.

Mikroskopisch wenig Stäbchen, Kokken, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10⁴	1,0	Schleier, Spur von Bodensatz	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10⁶	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 12000.

Auf der mit Bouillon (1:10⁴) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 59 von Kuh 64.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, wenig Stäbchen und Kokken.

Im Rahmpräparate: Wenig Stäbchen und Kokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, kein Bodensatz.	do.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2500.

Auf der mit Bouillon (1:10²) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 60 von Kuh 65.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁶	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2500.

Auf der mit Bouillon (1:10³) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 61 von Kuh 66.

Mikroskopisch keine Bakterien nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,1 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, wenig Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Wenig Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10²	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10⁴	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.
1 : 10⁶	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1400.

Auf der mit Bouillon (1:10³) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Das Resultat aus diesen vorstehend angeführten Untersuchungen der 50 Kühen entnommenen Milchproben ist folgendes:

In den Milchproben von 36 Kühen konnte ich Streptococc. lact. feststellen. Bei einer Kuh (Kuh Nr. IV) fand ich in der Milch, welche aus drei scheinbar gesunden Eutervierteln gewonnen war, Streptococc. pyogenes. Die Milchproben von 13 Kühen enthielten überhaupt keine Streptokokken.

Nunmehr war es noch wichtig, die in Düsseldorf und dessen Umgebung beschaffte Marktmilch auf Streptokokkengehalt zu untersuchen.

Milchprobe Nr. 62 (aus der Küche der städtischen Krankenanstalten zu Düsseldorf).

Diese Milch wird geliefert von dem Rittergute H. H. in H., zu dessen Viehbestand auch die bereits von mir untersuchten 50 Milchkühe gehören.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken und Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Aussaat im Bouillon sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^6$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 9000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^4$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Aussaat nach 8 stündigem Aufenthalte der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schleier, Spur von Bodensatz	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 68 aus dem Milchhäuschen Nr. 1.

Mikroskopisch Kokken, Diplokokken und Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, viele Stäbchen, Diplokokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Viele Stäbchen, Kokken, Diplokokken und Streptokokken.

a) Untersuchung und Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Kokken, Diplokokken, Stäbchen.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2 400 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

b) Aussaat nach 6 stündigem Aufenthalte der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	Kokken, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, viel Bodensatz.	do.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^8$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($1:10^7$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 64 von Milchhändler O. in D.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Diplokokken, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Sarzine, Diplokokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Zahlreiche Stäbchen, Kokken, Sarzine, Diplokokken, Streptokokken.

a) Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	Bazillen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, Spur von Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 160 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^5$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

b) Aussaat nach 6stündigem Aufenthalte der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Bazillen.
	0,1	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^8$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($1:10^7$) beschickten Agarplatte: Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 65 von Milchhändler K. i. D.

Im Rahmpräparate: Zahlreiche Stäbchen, Kokken, Diplokokken, Streptokokken.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Diplokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ grauweißes Sediment, enthält Leukozyten, zahlreiche Stäbchen, Kokken, Diplokokken, spärliche Streptokokken.

a) Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 970000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^5$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

b) Untersuchung nach 8stündigem Aufenthalte der Milch bei 20°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, zartes Häutchen, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken, Kokken.
$1:10^8$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($1:10^7$) beschickten Agarplatte: Kokken, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 66 von Milchhändler S. in D.

Mikroskopisch zahlreiche Kokken, Diplokokken, Stäbchen, Sarzine, nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Kokken, Diplokokken, Stäbchen, Sarzine, vereinzelte Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Kokken, Diplokokken, Stäbchen, Sarzine, Streptokokken.

a) Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Bodensatz.	Kokken, Diplokokken, Stäbchen.
	0,1	Starke Trübung, viel Bodensatz.	do.
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 700000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^5$) beschickten Agarplatte: Staphylokokken und Streptococc. lact.

b) Aussaat nach 6stündigem Aufenthalte der Milch bei 23°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Bodensatz.	Kokken, Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, Spur von Bodensatz.	do.
$1:10^8$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Auf der mit Bouillon ($1:10^7$) beschickten Agarplatte: Staphylokokken und Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 67 von Milchhändler G. in H.

Mikroskopisch Sarzine, Kokken, Diplokokken, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 1,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Sarzine, Kokken, Diplokokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Sarzine, Stäbchen, Kokken, Diplokokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Kokken, Diplokokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	do.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 4600000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Kolonien des Streptococc. pyogenes.

Milchprobe Nr. 68 von Milchbauer B. in H.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Diplokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Kokken.
	0,1	Schleier, Spur von Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, vereinzelte Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 850000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^5$) beschickten Agarplatte: Stäbchen und Kokken.

Milchprobe Nr. 69 von Milchbauer N. in H.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken und Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken und Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, Häutchen, viel Bodensatz.	Bazillen, Kokken, Sarzine.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
$1:10^6$	1,0	Klar, Spur von Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 4 730 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 70 von Milchhändler K. in H.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, Häutchen, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Starke Trübg., viel Bodensatz	do.
$1:10^4$	1,0	Schwache Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 670 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^5$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 71 aus dem Milchhäuschen Nr. 2 in D.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Sarzine, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,6 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Sarzine, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Sarzine, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, viel Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:18^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 3160000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 72 von Milchbauer S. in R.

Mikroskopisch Bazillen, Kokken, Diplokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Bazillen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Bazillen, Kokken, Diplokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Schwache Trübung, zartes Häutchen, viel Bodensatz.	Bazillen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	Starke Trübung, viel Bodensatz.	do.
$1:10^4$	1,0	do.	Kokken, Diplokokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Kokken.
$1:10^6$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 830000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^2$) beschickten Agarplatte: Kokken, Diplokokken.

Milchprobe Nr. 73 von Milchhändler L. in D.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^2$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^4$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.
$1:10^6$	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1 200 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 74 von Milchhändler S. in H.

Mikroskopisch Stäbchen, Sarzine, Kokken, Streptokokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Sarzine, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Sarzine, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat nach 3 stündigem Aufenthalte der Milch bei 18°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken.
	0,1	do.	Stäbchen, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 3 200 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 75 von Milchbauer H. in H.

Mikroskopisch Sarzine, Stäbchen, Kokken, Diplokokken sichtbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,7 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Sarzine, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, wenig Streptokokken.
	0,1	do.	do.
$1:10^6$	1,0	Geringe Trübung, wenig Bodensatz.	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 860 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Stäbchen und Kokken.

Milchprobe Nr. 76 von Milchhändler O. in D.

Mikroskopisch Sarzine, Stäbchen, Kokken, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Sarzine, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Sarzine, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat nach 6 stündigem Aufenthalte der Milch bei 18°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, weifses Häutchen, viel Bodensatz.	Stäbchen, einzelne Streptokokken.
	0,1	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	do.
$1:10^8$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 12 300 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^7$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 77 von Milchbauer D. in H.

Mikroskopisch Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, Häutchen, viel Bodensatz.	Stäbchen, wenig Kokken.
	0,1	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
$1:10^6$	1,0	Schleier, Spur von Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 2 520 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 78 von Milchbauer K. in D.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Diplokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ grauweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Diplokokken.
	0,1	do.	Stäbchen, Kokken.
$1:10^6$	1,0	Schwache Trübung, kein Bodensatz.	do.
	0,1	do.	do.
$1:10^8$	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 3 210 000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^7$) beschickten Agarplatte: Stäbchen und Kokken.

Milchprobe Nr. 79 von Milchbauer M. in G.

Mikroskopisch zahlreiche Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,3 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Diplokokken.

Aussaat nach 5 stündigem Aufenthalte der Milch bei 25°.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^4	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken.
	0,1	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	do.
1 : 10^6	1,0	do.	do.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^8	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 4 350 000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^6) beschickten Agarplatte: Stäbchen und Kokken.

Milchprobe Nr. 80 von Milchbauer K. in H.

Mikroskopisch Stäbchen, Kokken, Streptokokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,2 Vol. ‰ graugelbes Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^4	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken, Streptokokken.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
1 : 10^6	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.
1 : 10^8	1,0	do.	do.
	0,1	do	do.

Keimzahl: 870 000.

Auf der mit Bouillon (1 : 10^5) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Milchprobe Nr. 81 von Milchhändler W. in H.

Mikroskopisch Stäbchen und Kokken nachweisbar.

Ergebnis des Zentrifugierens: 0,4 Vol. ‰ gelbweifses Sediment, enthält Leukozyten, Stäbchen und Kokken.

Im Rahmpräparate: Stäbchen, Kokken, Streptokokken.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
$1:10^4$	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Stäbchen, Kokken.
	0,1	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	do.
$1:10^6$	1,0	Schleier, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
$1:10^8$	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 5140000.

Auf der mit Bouillon ($1:10^6$) beschickten Agarplatte: Stäbchen, Streptococc. lact.

Als Ergebnis dieser Untersuchungen von 20 Marktmilchproben konnte ich feststellen, dafs in 15 Proben — also bei 75 % — Streptokokken gefunden wurden. Unter diesen 15 Stämmen befand sich ein Stamm, welcher sich als Streptococc pyogenes ergab, während die übrigen 14 nach ihren gesamten morphologischen und kulturellen Eigenschaften als identisch mit dem Streptococc. lact. Kruse angesprochen werden müssen.

In 5 Milchproben — also in 25 % — konnte ich keine Streptokokken ausfindig machen.

Meine Ergebnisse stimmen somit in der Hauptsache mit denen von Beck, Eastles, Bergey, Petruschky, Kaiser und Brüning überein, und es hat sich die Auffassung Schlofsmanns, dafs es sich bei den positiven Streptokokkenbefunden um eine Verwechslung mit Streptobazillen handle, nicht bestätigen lassen.

Dafs es sich in der Tat um den Streptococc. lacticus Kruse handelt, geht aus den ganzen Verhältnissen hervor, über die ich noch folgendes bemerken möchte: Der gewöhnliche Agar-

nährboden sagt ihm nicht besonders zu. Es bilden sich hier sehr bald Degenerationsformen: Stäbchenartige, keulenförmige und kolostridiumähnliche Gebilde (Tafel I, Fig. 4). Das Wachstum auf Agar wird begünstigt durch Zusatz von 2% Milchzucker (Tafel I, Fig. 3). Fügt man hierzu noch eine Kreideaufschwemmung, so gewahrt man um die Kolonien herum einen Hof.

Der Streptococc. lact. vermag intensiv Säure zu bilden. Die meisten von mir gezüchteten Stämme brachten sterilisierte Milch bei 37° innerhalb 24 Stunden zur Gerinnung.

Auf Schottmüllerschem Blutagar tritt in der Umgebung der Kolonie keine Hofbildung auf. Auf Drygalskiagar sieht man bei vielen Stämmen nach einigen Tagen im Zentrum einen rötlichen Punkt, während die Umgebung nicht verfärbt wird.

In normaler Bouillon wächst Streptococc. lact. bei 37° stets sehr üppig zu langen Ketten aus, deren Glieder aus je zwei lanzettförmigen Diplokokken bestehen, welche sich in einem gewissen, gröfseren Abstande aneinanderlagern (Tafel I, Fig. 1). Seltener kommt hier auch die runde Form vor, wobei die einzelnen Kokken in ähnlicher Weise wie bei Streptococcus pyogenes formiert sein können. Aber stets sieht man auch dann in derselben Kultur in der überwiegenden Mehrzahl die lanzettförmige Diplokokkenform in ihrer typischen Gliederung (Tafel I, Fig. 2).

In Bouillon, welche ich durch Zusatz von $^1/_{10}$ Normalnatronlauge bis zum Phenolphthalein-Neutralpunkte alkalisierte, trat kein intensiveres Wachstum auf.

Auch in steriler Milch wächst der Streptococc. lact. sehr gut; indessen sieht man hier sehr bald, wie viele Kokken stäbchenartige Form annehmen (Degenerationsform Tafel I, Fig. 5 und 6).

Diese Degenerationsformen blieben gänzlich aus in Milch, welcher ich 2% sterilisiertes Na_2CO_3 zugesetzt hatte. Hier hatte bereits nach 12 Stunden ein äufserst intensives Wachstum stattgefunden, so dafs im mikroskopischen Präparate das ganze Gesichtsfeld mit Streptokokken dicht besät war: Zahlreiche Ketten, deren

Kokken auffallend rundlicher waren. Eine Koagulierung dieser Milch war nicht eingetreten, da sich milchsaures Natrium bildete und die Kohlensäure frei wurde.

Durch Zusatz von in Milch unlöslichem, sterilisiertem Calcium carbonicum wurde das Wachstum der Streptokokken ebenfalls erheblich gefördert, auch hier blieben in den ersten 24 Stunden Degenerationsformen gänzlich aus.

In den 4 Milchproben à 10 ccm, denen ich der Reihe nach 0,05, 0,1, 0,2 und 0,5 Calcium carbonicum zugesetzt hatte, trat bereits nach 24 Stunden Koagulation auf, und nunmehr traten auch wieder zahlreiche stäbchenartige Degenerationsformen in Erscheinung.

Die Gerinnung dieser Milch konnte wohl nicht verhütet werden, weil offenbar von dem am Boden des Röhrchens sitzenden unlöslichen Calcium carbonicum eine der gebildeten Milchsäure nicht genügend entsprechende Menge in die Milch gelangte.

Abgesehen von der ihm meist eigenen Lanzettform unterscheidet sich der Streptococc. lact. von dem Streptococc. pyogenes durch die Form seiner Kolonien auf Agar, die ihm regelmäfsig in starkem Mafse eigene Säurebildung, durch sein Wachstum bei auch niederen Temperaturen und vor allem durch seine aufserordentlich grofse Neigung, auf festem künstlichen Nährboden Involutionsformen zu bilden.

Eine ganz andere Frage ist es nun freilich, ob man auf Grund des häufigen Vorkommens von Streptokokken in der Milch zu den gleichen praktischen und pathogenetischen Schlüssen gelangen darf wie Petruschky. Diese Frage ist nach meiner Ansicht weniger durch biologische und experimentelle Untersuchungen, wie durch Überlegungen allgemeiner Natur zu entscheiden. Denn die Frage, ob es überhaupt scharf getrennte verschiedene Arten von Streptokokken gibt oder ob es sich bei den mitunter ja sehr auffallenden Unterschieden nur um »passagere Standortsvarietäten« (Lubarsch[23]) handelt, ist immer noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Das zeigen auch wieder zahlreiche Untersuchungen, die im Anschlusse an Schott-

müllers Einteilung der Streptokokken vorgenommen sind. Auch hier hat es sich herausgestellt, daſs zahlreiche Übergänge zwischen den einzelnen Formen bestehen und die charakteristischen Unterschiede sich allmählich immer mehr verwischen können; so gibt z. B. Rüdiger[24]) an, daſs er aus der normalen Mundhöhle Gesunder Streptokokken züchten konnte, die zunächst durch ihr kulturelles Verhalten drei verschiedene Arten zu sein schienen bis sich allmählich bei Weiterzucht die Unterschiede zwischen ihnen völlig verwischten. Aber selbst wenn man nicht den Standpunkt von Lehmann[25]) und Lubarsch[23]) teilen will, daſs die Streptokokken jeder Arteinteinlung spotten,« so muſs man sagen, daſs aus Tierversuchen über Pathogenität und Giftigkeit der Streptokokken wenig auf ihre Gefährlichkeit für den Menschen zu schlieſsen ist. Immer von neuem macht man die Erfahrung, daſs tierpathogene Streptokokken für den Menschen ungefährlich sein können und umgekehrt, und bezüglich der Giftigkeit hat von Lingelsheim[26]) gerade gezeigt, daſs für die hochvirulenten Formen eine Giftproduktion überhaupt noch nicht erwiesen ist, während allerdings bei solchen mittlerer oder geringerer Virulenz Giftbildung vorkommt.

Deswegen will ich auch auf die von mir vorgenommenen Tierversuche kein groſses Gewicht legen.

Am 17. März 1909 injizierte ich drei weiſsen Mäusen verschiedene Mengen einer eintägigen Bouillonkultur des Streptococc. lact.

Maus I erhielt 0,3 ccm intraperitoneal,
» II » 0,1 » »
» III » 0,2 » subkutan.

Diese Mäuse waren noch nach 8 Tagen gesund.

Am 29. März 1909 impfte ich zwei Kaninchen.

Kaninchen Nr. I erhielt an der Auſsenfläche des linken Ohres subkutan 0,2 ccm des durch einen Reichelfilter getriebenen Filtrats einer 10tägigen Bouillonkultur von Streptococc. lact.

Kaninchen Nr. II erhielt an der Auſsenfläche des linken Ohres subkutan 0,2 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur des Streptococc. lact.

Zur Kontrolle wurde beiden Tieren an den anderen Ohren die gleiche Menge steriler Nährbouillon subkutan injiziert.

Nach 24 Stunden ist bei Kaninchen Nr. I an der Injektionsstelle des linken Ohres eine leichte teigige Infiltration fühlbar, die Temperatur ist an dieser Stelle etwas erhöht, die Haut leicht gerötet.

Die gleichen Erscheinungen, allerdings ohne Temperaturerhöhung, lassen sich am rechten Ohre nachweisen.

Bei Kaninchen Nr. II läfst sich nach 24 Stunden an der Injektionsstelle des linken Ohres eine leichte teigige Infiltration feststellen; die Blutgefäfse erscheinen etwas injiziert, vermehrte Wärme besteht nicht. Denselben Befund ergibt die Besichtigung des rechten Ohres.

Zu weiteren Veränderungen kommt es an den Ohren nicht, welche sich nach 3 Tagen wieder in normalem Zustande befinden.

Regelmäfsige Temperaturmessungen bei den beiden Tieren ergaben keine Erhöhung der Blutwärme.

Am 31. März 1909 injizierte ich drei weifsen Mäusen verschieden grofse Dosen des Filtrats einer 10tägigen Bouillonkultur von Streptococc. lact. in die Bauchhöhle

Maus	I	erhielt	0,1 ccm
»	II	»	0,2 »
»	III	»	0,3 »

Nach 8 Tagen waren die Mäuse gesund.

Von viel gröfserer Bedeutung ist dagegen m. E. die Frage nach der Herkunft der in der Milch auftretenden Streptokokken.

Lubarsch[23]) hat in seinem Aufsatze »Zur Theorie der Infektionskrankheiten« S. 199 ausgeführt, dafs für das Zustandekommen einer Infektion besonders auch bei den eigentlichen exogenen Impfkrankheiten der unmittelbar vorhergehende Aufenthaltsort der Mikroben von gröfster Bedeutung sei, — in dem Sinne, dafs Mikroorganismen, die unmittelbar aus einem Krankheitsherde auf gesunde Menschen übergehen, eher Infektionen hervorzurufen geeignet sind. Wenn also das Vorkommen von Streptokokken in der Milch nur dann einträte, wenn in der

Mamma des betreffenden Tieres Krankheitsherde, insbesondere frische Mastitis bestände, dann müfste man sich den Anschauungen Petruschkys anschliefsen, dafs jede streptokokkenhaltige Milch als eine für den Säugling gefährliche zu betrachten ist. Aber davon kann keine Rede sein. Das geht ja schon zum Teil aus den älteren Angaben von Brüning, noch mehr aber aus meinen eigenen Untersuchungen hervor. Denn hier wurden ja Streptokokken gefunden in Milch von Kühen, welche sich bei fortgesetzter Untersuchung als durchaus gesund erwiesen, in Milch, welche in Musterställen unter den denkbar besten Einrichtungen und Vorsichtsmafsregeln für Sauberkeit gewonnen war; auch war die im Zentrifugate der Milchproben gewonnene Zahl der Leukozyten eine so geringe, dafs man mit Sicherheit das Vorhandensein einer Mastitis ausschliefsen kann.

Um so interessanter war daher die Frage, woher und auf welche Weise denn die Streptokokken in die Milch gelangen. Zu diesem Zwecke wurden 10 l Stalluft durch eine mit sterilisierter Milch gefüllte Waschflasche gesogen, welch letztere ich im Musterstalle des »Vereins für Säuglingsfürsorge, Düsseldorf« in einer Entfernung von 1 m hinter den Kühen und in einer Höhe von 2 m über dem Erdboden aufgestellt hatte. Die Milch wurde sofort nach der Einlieferung untersucht. Mikroskopisch waren in ihr nachweisbar: Sarzine, Kokken, Bazillen, Stäbchen und vereinzelte Streptokokken.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
unverdünnt	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	Sarzine, Bazillen, Kokken, Diplokokken.
	0,5	do.	do.
	0,1	do.	Sarzine, Stäbchen.
1 : 10^2	1,0	Schwache Trübung, kein Bodensatz.	Sarzine, Bazillen.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	do.
1 : 10^4	1,0	do.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 6000.

In dieser Milch befanden sich also nur wenige Streptokokken; es waren weniger als 100 im ccm enthalten.

Auf der mit Bouillon (1:10) beschickten Agarplatte: Kolonien von Sarzinen, Heubazillen, Stäbchen, Kokken und vereinzelte Kolonien von Streptococc. lact.

Auf einer Agarplatte, welche $1/2$ Stunde neben der mit Milch gefüllten Waschflasche in derselben Höhe der Stalluft ausgesetzt wurde, befanden sich zahlreiche Kolonien von Heubazillen, Schimmelpilzen, Sarzine, Stäbchen und Kokken. Streptokokken konnte ich keine ausfindig machen. Diese mufsten, wenn wirklich solche aus der Platte aufgegangen waren, von den anderen zahlreichen Kolonien verdeckt werden.

Nunmehr untersuchte ich noch das Stroh, den Kuhkot und von der Innenfläche des Hinterschenkels resp. vom Euter selbst abgeschabten Hautschmutz.

1. Die mit reinem zerkleinerten Stroh beschickte Bouillon war nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° getrübt. Im mikroskopischen Präparate befanden sich zahlreiche Stäbchen, Sarzine, Kokken und Diplokokken, keine Streptokokken.

   Auch die mit Kot und Hautschmutz beschickten Nährböden wurden bei einer Temperatur von 37° gehalten.

2. Eine Öse Kot wurde in Bouillon und sterilisierte Milch gebracht. Bereits nach 12 Stunden war die Bouillon getrübt und die Milch stark koaguliert.

   In der Bouillon: Sarzine, Kokken. Diplokokken, Stäbchen, Bazillen, wenig Streptokokk. In der Milch desgleichen.

3. Die mit Hautschmutz beschickte Bouillon war nach 12 Stunden getrübt, die Milch noch nicht geronnen.

   In der Bouillon befanden sich in bedeutend überwiegender Mehrzahl Streptococc. lact., daneben Kokken, Diplokokken, Stäbchen, Sarzine und Bazillen.

   Die Milch, welche nach 24 Stunden sauer war, zeigte denselben Befund.

Der Streptococc. lact. ist demnach zur Hauptsache Kotbewohner. In der Stalluft, welche mittels Wassersprengung stets sehr feucht gehalten wird, war er in 2 m Höhe nur in geringer Menge vertreten.

Nun könnte man freilich noch einwenden, daſs es doch nicht ausgeschlossen ist, daſs dieser an sich harmlose und nicht aus Krankheitsherden stammende Streptococc. unter besonderen Umständen doch krankmachende Eigenschaften erlangen könnte. Das kann man natürlich nicht direkt widerlegen, aber selbst, wenn man das zugeben will, würde man damit noch nicht den Standpunkt von Petruschky anerkennen. Denn es ergibt sich aus meinen Untersuchungen, daſs selbst bei gröſster Sauberkeit und bei fortwährender tierärztlicher Beaufsichtigung der Kühe das Auftreten von Streptokokken in Melkmilch nicht verhindert werden kann, ja daſs es sogar ein häufiges Vorkommnis ist. Man wird daher, selbst wenn man zugeben muſs, daſs möglicherweise der Streptococc. lact. auch mal krankmachende Eigenschaften erwerben kann, allen hygienischen Anforderungen gerecht werden, wenn man dafür sorgt, daſs

1. möglichst wenig Keime in die Milch hineingelangen,
2. eine Vermehrung der einmal von auſsen in die Milch eingedrungenen Spaltpilze nicht stattfinden kann.

Die zweite Bedingung wird durch sofortige Aufbewahrung der Milch in Kühlräumen erfüllt, die erste durch Vornahme des Melkens der unter tierärztlicher Kontrolle gehaltenen Kühe in besonderen Melkräumen, natürlich unter genauester Beachtung der für eine saubere Milchgewinnung in Betracht kommenden Maſsnahmen. Wie wichtig das ist, geht aus folgenden Untersuchungen hervor.

Zum Unterschiede von der im besonderen Melkraum nach vorhergegangener Abwaschung des Euters gewonnenen Milch, zeigten die Milchproben, welche von denselben Kühen im Stalle selbst unter denselben sonstigen Kautelen gemolken war, einen bedeutend höheren Gehalt an Streptokokken.

Milch von Kuh Nr. 9.

a) Im Melkraum gewonnen.

Aussaat in Bouillon sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Zahlreiche Streptokokken, Stäbchen.
	0,3	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 200.

b) Im Kuhstalle gemolken (Kuh steht auf Strohstreu).

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Starke Trübung, viel Bodensatz.	Streptokokken, wenig Stäbchen.
	0,3	do.	do.
	0,1	Schleier, wenig Bodensatz.	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1200.

Milchprobe von Kuh Nr. 7.

a) Im Melkraum gewonnen.

Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^2	1,0	Leichte Trübung, wenig Bodensatz.	Streptokokken, Sarzine.
	0,3	Bouillon klar, Spur von Bodensatz.	Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
1 : 10^4	1,0	do.	do.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 350.

b) Im Kuhstalle selbst gemolken (Kuh steht auf Strohstreu).
Aussaat sofort nach der Einlieferung.

Verdünnung	Menge der Aussaat in ccm	Makroskopischer Befund	Mikroskopischer Befund
1 : 10^3	1,0	Starke Trübung, wenig Bodensatz.	Sarzine, Stäbchen, Streptokokken.
	0,3	Schwache Trübung, wenig Bodensatz.	Stäbchen, Streptokokken.
	0,1	Bouillon klar, Spur von Bodensatz.	Streptokokken.
1 : 10^4	1,0	Bouillon klar, kein Bodensatz.	Steril.
	0,1	do.	do.

Keimzahl: 1500.

Während die im Melkraume gewonnene Milch 200—350 Keime in 1 ccm enthielt, wies die im Stalle aus denselben auf Strohstreu stehenden Kühen gemolkene Milch in 1 ccm 1200 bis 1500 Keime auf.

Schlufs.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen fasse ich in folgende Sätze zusammen.

1. Nur in 2 Milchen von 81 Proben der aus Düsseldorf und Umgebung stammenden Milch fand ich den Streptococc. pyogenes. In dem einen Falle handelte es sich um Milch von einer euterkranken Kuh und im zweiten Falle um Milch, welche bei einem Düsseldorfer Milchhändler gekauft war.

2. In fast allen anderen Milchproben (in 61 von 81 — 75%) liefsen sich nach dem von Petruschky angegebenen Verfahren Kettenkokken nachweisen, die sich bei weiterer Untersuchung stets als identisch mit dem von Kruse beschriebenen Streptococc. lact. erwiesen und die sich von Streptococc. pyogenes, dem sie zuweilen, besonders in der ersten Bouillonkultur, zum Verwechseln ähnlich sehen können durch ihr morphologisches Verhalten und insbesondere durch ihre Neigung, auf festen Nährböden und in Milch bei eintretender Säuerung Involutionsformen zu bilden, unterscheiden.

3. Es ist höchst wahrscheinlich, dafs diese Streptokokken aus dem Kot in die Milch hineingelangen.

4. Es ist unwahrscheinlich, dafs durch diese Streptokokken Säuglingen Schädigungen zugefügt werden können

5. Der nicht ganz abzuleugnenden Gefahr, dafs diese an sich harmlosen Streptokokken unter besonderen Bedingungen krankmachende Eigenschaften erwerben könnten, kann durch Vornahme des Melkgeschäftes in besonderen Melkräumen und Aufbewahren der Milch in Kühlräumen vorgebeugt werden.

Literatur.

1. Beck. Experimentelle Beiträge zur Untersuchung über die Marktmilch. Deutsche Vierteljahrschrift für öffentliche Gesundh.-Pflege 1900, S. 438.
2. Escherich. Über Streptokokken-Enteritis im Säuglingsalter. Jahrb. f. Kinderh.-Kunde Bd. 49, S. 162.
3. Balley H. L. Über die Konstanz von Bakterienarten in normaler Milch. Ref. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 1, S. 795.
4. Eastles. Die Pathologie der Milch. Ref. Im Arch. f. Kinderh.-Kunde 1903, S. 153.
5. Jäger. Über die Möglichkeit tuberkulöser Infektion des Lymphsystems durch die Milch und Milchprodukte. Hygienische Rundschau Bd. 9, S. 810.
6. Conn H. W. Vergleichung des Wachstums von Bakt. in der Milch. Ref. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 8, S. 442.
7. Reed R. C. and Ward A. R. Concerning the presence of streptococci in the Gealthy and ver of a card. Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 30, S. 83.
8. Lammeris und van Harreveld. Bakterienbefund in Kuhmilch nach abgeheilter Mastitis. Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 30, S. 83.
9. Bergey D. H. The prevalence of streptococci in cords milk. Ref. Baumgarten. Jahresbericht 1901, S. 31.
10. Romme. Entérites et infektions intestinales Gaz. drebd. Sept. 1899.
11. Petruschky J. und Kriebel M. Die Ursachen der Sommersterblichkeit der Säuglinge und die Möglichkeit ihrer Verhütung. Verlag von F. Leineweber, Leipzig 1904.
    Derselbe. Weitere Studien zur Frage der Milchverderbnis als Ursache der Säuglingssterblichkeit. Gesundheit. Leineweber, Leipzig 1908.
12. Schlofsmann. Über Kindermilch. Verhandl. der Ges. f. Kinderheilkunde zu Breslau 1904.
13. Seiffert. Über Kindermilch; ebenda.
14. Rullmann und Trommsdorf. Milchhygienische Untersuchungen. Arch. f. Hygiene Bd. 56, 1906.
15. v. Behring. Bekämpfung der Tuberkulose bei Rindvieh und hygienische Milcherzeugung. Arch. d. Landwirtschaftsrat. 30. Jahrg. 1906.
16. Kaiser M. Über die Häufigkeit des Streptokokkenbefundes in der Milch. Arch. f. Hygiene Bd. 56.
17. Brüning. Jahrb. f. Kinderh.-Kunde Bd. 59, 1903.
18. Müller Th. Über die Streptokokken der Milch. Arch. f. Hygiene Bd. 56.
19. Baumann E. Beiträge zur Unterscheidung der Streptokokken. Münch. Med. Wochenschr. 1906, Nr. 25.
20. Nieter. Zur Streptokokkenfrage. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 56, S. 307.
21. Kruse. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 34, S. 737.

22. Heinemann P. G. The pathogenity of streptococc. lactic. Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 40, 1907, S. 289.
23. Lubarsch. Ergebnisse der allg. Pathologie, Jahrg. III.
Derselbe. Ebenda, S. 178.
Derselbe. Zur Lehre von den Geschwülsten und Infektionskrankheiten. Wiesbaden 1898.
24. Rüdiger. Journal of the Americ. med. Associat. 1906, Nr. 15.
25. Lehmann-Neumann, Grundriſs und Atlas der Bakt. III. Aufl.
26. Lingelsheim, Kolle, Wassermann. Handb. der pathogenen Mikroorganismen.

Die Photographien auf Tafel I sind aufgenommen mit dem groſsen Zeiſsschen mikrophotographischen Apparate. Okular 6, Objektiv Ölimmersion 2 mm, Tubusauszug 16, Kameraauszug 20, Vergröſserung 800.

Die Anregung zu der vorliegenden Arbeit wurde mir von Herrn Professor Dr. Schloſsmann. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Schloſsmann, Herrn Prof. Dr. Lubarsch und Herrn Dr. Smidt für die mir zuteil gewordene Unterstützung während meiner Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Über den Nachweis von Indol in den bakterischen Kulturen mit der Ehrlichschen Methode.

Von

Dr. E. Crossonini.

(Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität in Genua.
Direktor: Prof. P. Canalis.)

Es ist bekannt, dafs unter den verschiedenartigen biologischen Erscheinungen gewisser Bakterien jene nicht minder wichtig ist, die zur Wiedererzeugung von Indol führen kann, welcher Vorgang vermittelst spezieller Methoden leicht ersichtlich gemacht werden kann, Methoden, welche alle Verfasser bestrebt waren zu vervollkommen, nachdem bewiesen worden ist, welche Wichtigkeit die Reaktion des Indols in der bakteriologischen Diagnosis und speziell in der Unterscheidung der Bazillen der Typhus-Paratyphus Gruppe von jenen der Bacterium coli-Art hat.

Unter allen empfohlenen Verfahren das in der Bakteriologie als das einfachste und genaueste gewöhnlich angewendete ist die Methode Salkowskis (Lösung 1:5000 von Kalinitrit + Schwefelsäure).

Diese Methode gibt jedoch sichere Resultate nur mit Kulturen, welche eine Entwickelung von wenigstens 24 Stunden haben [1]), anderenteils ist sie auch unverläfslich, so zwar, dafs viele

1) Um die Frage zu lösen, ob einige bakterische Arten die Eigenschaft haben oder nicht, Indol zu bilden, verwendete Morris Kulturen von 10 Tagen in 5 proz. peptonisierter Fleischbrühe, und er sah mit dieser Methode, dafs

Verfasser[1]) den Wert der Reaktion des Indols bezweifelt haben, wegen der Unterscheidung des Bacterium coli vom Bazillus Eberths. Auch die von Crisafulli[2]) angegebene Methode ist der Erwähnung wert; zu diesem Behufe legt man in das Probegefäfs der Kultur in mit echter Chlorwasserstoff-Säure sauer gemachte Fleischbrühe Tannenholzstückchen (kleine Zweige ohne Rinde): wenn Indol in der Kultur vorhanden ist, so wird das Holz rot. Letzteres hat Morelli als eine neue Methode empfohlen; diese beruht darauf, dafs Oxalsäure bei Gegenwart von Indol eine deutliche rote Färbung erzeugt[3]).

Ich habe mich daher entschlossen, eine Reihe von Forschungen zu unternehmen, mit der Absicht, ein neues von Ehrlich[4]) vorgeschlagenes Verfahren der Demonstration des Indols im Urin zu studieren, welches dann von Böhme[5]), Steensma[6]), Marshall[7]) angewendet worden ist, um das Vorhandensein von Indol in den bakterischen Kulturen ersichtlich zu machen.

Das Verfahren besteht darin, dafs man als enthüllenden Agenten des Indols das Paradimethylamid-benzaldehyd in einer Lösung wie folgt anwendet:

---

eine grofse Anzahl Bakterien, welche bis dahin als nicht Indol erzeugend gehalten waren, diese Eigenschaft haben.

Morris: Studien über die Produktion von Schwefelwasserstoff, Indol und Merkaptan bei Bakterien. (Archiv für Hygiene Bd. 30. S. 304.)

1) Nonnotte et Demanche: Sur la recherche de l'Indol dans les cultures microbiennes. (Soc. Biol. 64, No. 11, Mars 1908.)

2) Crisafulli: La reazione rossa del legno di pino per la ricerca dell'indolo nelle culture in brodo dei microorganismi. (Rivista d'Igiene e Sanità pubblica 1895.)

3) Morelli: Di un nuovo metodo per svelare l'indolo a scopo batteriologico. (Rivista critica di clinica medica 1908, Anno IX, No. 5.)

4) Ehrlich: Über die Dimethylamido-benzaldehyd-Reaktion. (Med. Woch. 1901 Nr. 15.)

5) Böhme: Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Zentralblatt f. Bakteriologie Bd. XL, S. 129.)

6) Steensma: Über den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen. (Zentralblatt f. Bakt. 1 Orig. Band 41, S. 295—298.)

7) Marshall: The paradimethyl amidobenzaldehyde test for indole. (The Journal of Hygiene, Vol. 7, No. 4.)

I. Lösung:

Paradimethylamido-benzaldehyd	. Teile	4
Absolutes Alkohol	»	380
Chlorwasserstoffsäure	»	80

Zu 10 ccm Kultur in Fleischbrühe des zu prüfenden Mikroorganismus fügt man 5 ccm genannter Lösung, dann 5 ccm von der II. Lösung:

Mit Kalipersulfat getränkte wässerige Lösung.

Man schüttelt die Mischung, und wenn Indol vorhanden ist, bemerkt man sofort das Auftreten einer Rosafarbe, welche nach und nach dünkler wird, bis sie im Zeitraum von einer Stunde die äufserste Intensität erreicht.

Dies ist das von Böhme anempfohlene Verfahren; in einer in diesem Betreff kürzlich veröffentlichten Arbeit kommt Marshall zu folgenden Schlüssen:

I. Dafs die Reaktion mit Paradimethylamido-benzaldehyd empfindlicher und genauer ist als die alte Reaktion mit Salpetersäure, Kali und Schwefelsäure.

II. Dafs die Methode vermittelst farbenmetrischer Schätzungen sich zu quantitativen Forschungen eignet.

Mit dieser Mitteilung habe ich mir vorgenommen, zu kontrollieren, ob die Schlüsse, zu welchen Marshall gelangt ist, wirklich der Wahrheit entsprechen; meine Forschungen haben sich auf viele Keime ausgedehnt und besonders auf eine grofse Reihe von Vibrionen, für welche die Forschung des Indols grofse Wichtigkeit hatte.

Überdies habe ich getrachtet, für jeden einzelnen Keim die kürzeste Zeit der Entwickelung in Fleischbrühe zu bestimmen, binnen welcher es möglich ist, in der Kultur das Vorhandensein von Indol zu bemerken, ein Umstand, welchen die früheren Verfasser nicht berücksichtigt haben und welcher, meiner Ansicht nach, einen Wert in der bakteriologischen Diagnosis hat.

Bei allen Experimenten habe ich immer genau denselben Typus von Agar (welches ich in genügender Quantität bereitet hatte, um die gegenwärtigen Forschungen ausführen zu können)

verwendet; dies um Fehlern weniger unterliegende komparative Daten zu erlangen; zum Säen der Tuben in Fleischbrühe ging ich stets von einer Agar-Kultur von einem Alter von 24 Stunden aus, indem ich immer dieselbe Schlinge verwendete, mit welcher ich ein stets gleiches Quantum Keime in eine jede Tube von 5 ccm Fleischbrühe transportierte.

Die Mikroorganismen, mit welchen die Experimente gemacht worden sind, gehören der Sammlung des Laboratoriums an; diese sind folgende:

Vibrio ägyptische Cholera » Cholera A » » B » » C » » D » » E	Cholera-vibrionen.	Vibrio Cholera F » » G » » H » » Buchner » » Marseiller » » C. Ronald	Cholera-vibrionen

Vibrio von Metchnikoff
» » Finkler
} Vibrionen anderer Herkunft.

Vibrio Danubicus
» der Gewässer der Elbe
» » » des Nils
» » » (Massaua)
} Vibrionen der Gewässer.

Bacterium coli,
B. Typhus,
B. Proteus vulgaris,
B. Enteritis Gaertner,
B. Paratyphus (Brion-Kaiser),
B. Hog Cholera (Grawford-Krahl, Prag),
B. Icteroyd (Krahl, Prag),
B. Prodigiosus.

Vor allem habe ich angefangen, ein vergleichendes Studium mit der alten Methode Salkowskis und der neuen Ehrlichs zu unternehmen. In einer Reihe von Probegefäſsen, von welchen ein jedes 5 ccm peptonisierter Fleischbrühe enthielt, setzte ich verschiedene Mikroorganismen ein, und in verschiedenen Zeitabschnitten forschte ich nach dem Indol. Die Resultate sind in folgenden Tabellen angegeben: das Zeichen + bedeutet, daſs die Reaktion eine positive ist, das Zeichen 0 bedeutet, daſs die Reaktion eine negative ist, und das Zeichen 0+ bedeutet, daſs die Reaktion positiv in einer schwankenden Weise ist.

Mit der alten Methode Salkowskis:

	Alter der Kultur in Stunden													
	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	20	24	48	72
V. Metchnikoff . . .	0	0	0	0	0+	0+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Ägyptische Cholera	0	0	0	0	0+	0+	0+	+	+	+	+	+	+	+
V. Cholera A . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
V. » B . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
V. » C . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
V. » D . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
V. » E . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
V. » F . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	+	+	+	+
V. » G . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
V. » H . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	+	+	+	+
V. von den Gewässern des Nils	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+
V. Marseiller Cholera .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
V. Cholera C. Ronald .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
V. von den Gewässern der Elbe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+
V. Buchners Cholera .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+
V. Finklers	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
V. Massaua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
V. Danubicus . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+

Aus den beiden Tabellen geht hervor, daſs es mit der neuen Methode möglich ist, das Vorhandensein von Indol bei Kulturen in Fleischbrühe von kaum zweistündiger Entwickelung festzustellen und dies im gröſsten Teil der geprüften Keime; mit der alten Methode Salkowskis hingegen kann das Vorhandensein von Indol nur dann wahrgenommen werden, wenn die Kulturen ein Alter haben, welches zwischen 14 und 48 Stunden schwankt: nur zwei Keime, das Vibrion Metchnikoffs und die ägyptische Cholera geben, aber nicht konstant, mit der alten Methode eine positive Reaktion nach sechs Stunden. Das gibt zur Annahme Veranlassung in erster Linie, daſs die Indol-Reaktion mit Paradimethylamido-benzaldehyd viel empfindlicher ist als die Reaktion mit Nitrit und Schwefelsäure. Um von dieser Tatsache eine deutliche Demonstration zu haben, machte ich eine Lösung von reinem Indol in destilliertem Wasser im Verhältnis

Mit der neuen Methode Ehrlichs:

	Alter der Kultur in Stunden													
	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	20	24	48	72
V. Metchnikoff . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Ägyptische Cholera	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Cholera A . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. › B . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. › C . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. › D . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. › E . . .	0	0+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V › F . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. › G . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. › H . . .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. von den Gewässern des Nils	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Marseiller Cholera .	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Cholera C. Ronald .	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
V. von den Gewässern der Elbe	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Buchners Cholera .	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	+	+	+	+	+
V. Fincklers	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V. Massaua	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
V. Danubicus . . .	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

von 1 zu 10000. Vermittelst geeigneter Verdünnung habe ich dann tatsächlich wahrnehmen können, dafs während die Reaktion mit Nitrit und Schwefelsäure bei einer Lösung von Indol zu 1:200000 kaum merkbar ist, gibt die mit Paradimethylamido-benzaldehyd eine entschiedene Rosafärbung bei einer Indollösung von 1:1000000.

Aufserdem fand ich, dafs die Methode noch empfindlicher gemacht werden kann, indem man die von Böhme empfohlene und von den andern Verfassern ausgeführte Technik wie folgt abändert: Anstatt die Reagenten mit der bakterischen Kultur zu mischen, läfst man die Paradimethylamido-benzaldehyd-Lösung längs des Probegefäfses fliefsen, indem man vermeidet, dafs letztere sich mit der Kultur vermengt. Wenn Indol vorhanden ist, sieht man sofort an der Berührungszone zwischen beiden

Flüssigkeiten einen rosafarbigen Ring, welcher deutlicher auftritt, wenn man das Probegefäfs ein wenig erwärmt, und im Gegensatz mit der anderen farblosen Flüssigkeit steht. Wenn man auf diese Weise verfährt, kann man auch mit einer Lösung von 1:5000000 von Indol eine Reaktion erlangen.

Ich habe meine Forschungen auch auf andere Mikroorganismen ausgedehnt. Mit einer Reihe von Probegefäfsen, von welchen ein jedes 5 ccm Fleischbrühe enthielt, machte ich Kulturen mit folgenden Keimen und versuchte, wie gewöhnlich, in verschiedenen Zeitabschnitten die Reaktion des Indols.

Mit der neuen Methode Ehrlichs:

	Alter der Kultur in Stunden													
	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	20	24	48	72
Bacterium coli	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. Typhus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B. Proteus vulgaris . . .	0	0	0	0	0+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B. Gaertners Enteritis .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B. Brion - Kaisers Paratyphus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B. Hog Cholera (Grawford)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B. Icteroyd	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Prodigiosus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Mit der alten Methode Salkowskis:

	Alter der Kultur in Stunden													
	1	2	3	4	6	8	10	12	14	16	20	24	48	72
Bacterium coli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
B. Typhus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0+
B. Proteus vulgaris . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
B. Gaertners Enteritis . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0+
B. Brion-Kaisers Paratyphus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0+
B. Hog Cholera (Grawford)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0+
B. Icteroyd	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0+	0+
Prodigiosus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+0	0	0	0+	0+

Aus diesen Experimenten geht hervor, dafs zwei Mikroorganismen (Bacterium coli und Bacillus proteus vulgaris) mit

der Methode Ehrlichs eine positive Reaktion nach 6—4 stündiger Entwickelung, mit der Methode Salkowskis erst nach 24 bis 48 Stunden geben; und das erklärt sich leicht mit der gröſseren Empfindlichkeit der neuen Methode,

Dann haben wir sechs Mikroorganismen, unter welchen das Typhus B., bei welchen die Reaktion mit der neuen Methode beständig negativ ist, währenddem man manchmal eine schwache rote Färbung erzielt, wenn man mit Nitrit und Schwefelsäure probiert; das erweckt den Zweifel, daſs eine solche positive Reaktion nicht von dem Vorhandensein von Indol, sondern von anderen Substanzen abhängt, welche obengenannte Keime auf unbeständige Weise hervorrufen.

Wie schon Marshall getan, schritt ich alsdann zur Destillation der Kultur, um den Indol zu isolieren; der Indol ist eine organische Zusammensetzung der aromatischen Serie, welche in Form von farblosen, brillanten, im Wasser, Alkohol etc. auflösbaren Kristallen erscheint und welche unverändert im leeren Raum und im Wasserdampf verfliegt. Wenn man die bakterische Kultur jener sechs Mikroorganismen destilliert, so ist es klar, daſs, wenn die erlangte rote Färbung wirklich von dem Vorhandensein von Indol abhängt, diese Färbung auch in den Destillaten auftreten muſs. In sechs je 10 ccm Fleischbrühe enthaltenden Probegefäſsen setzte ich die zu prüfenden Keime ein; nach 48 und 72 stündiger Entwickelung im Thermostat filtrierte ich die Kulturen vermittelst eines speziellen Destillierkolbens und führte an den Destillaten die Reaktion des Indols mit der Methode Salkowskis aus:

Reaktion am Destillat. (Salkowskis Methode.)

	Alter der Kultur in Stunden: 48	72
B. Typhus	0	0
B. Gaertners Enteritis	0	0
B. Brion-Kaisers Paratyphus	0	0
B. Hogs Cholera (Grawford)	0	0
B. Icteroyd	0	0
B. Prodigiosus	0	0

Diese Resultate stimmen vollkommen mit jenen überein, zu welchen Marshall gelangt ist, dafs nämlich gewisse Substanzen bestehen (Skatol etc.), welche mit Nitrit und Schwefelsäure eine rote Färbung geben, währenddem sie mit der neuen Methode keine Reaktion aufweisen, weshalb ein solcher Grund zu Irrtümern aufgehoben wird.

Quantitative Determination.

Zur quantitativen Feststellung des Indols sind verschiedene Methoden vorgeschlagen worden; dieselben sind aber sehr kompliziert und daher in der Bakteriologie wenig gebraucht. Unter anderen erwähnen wir das von Herter und Foster[1]) empfohlene Verfahren: nach wiederholten Destillationsprozessen gebrauchen diese Verfasser als Reagent das monoschwefelsaure Natron Naphtochinon B.

Wie bereits Marshall getan hat, habe ich mir vorgenommen zu studieren, ob sich das Verfahren Ehrlichs zu einer quantitativen Feststellung vermittelst farbenmetrischer Valutationen eignet.

Vor allem machte ich eine metrische Farbenskala mit folgender Methode: Ich löste 0,05 g von chemisch reinem Indol in 500 g destilliertem Wasser und erhielt auf diese Weise eine solche Lösung, dafs in einem Kubikzentimeter derselben 0,1 mg Indol enthalten war.

Zu 100 ccm dieser normalen Lösung fügte ich 50 ccm der Paradimethylamido-benzaldehyd-Lösung und 50 ccm der mit Kalipersulfat gesättigten Wasserlösung hinzu. Daraus entstand eine stark rosafarbige Flüssigkeit, welche 0,05 mg pro Kubikzentimeter enthielt.

Unter 21 ganz gleichen Probegefäfsen von gleichem Kaliber und gleicher Höhe verteilte ich folgende Quantitäten genannter Flüssigkeit:

1) Herter und Foster: A metod for the quantitative determination of Indol (Journ. of Biological Chemistry, Vol. 1, Page 257).

1)	ccm	0,25	=	mg	0,0125	von	Indol
2)	»	0,50	=	»	0,0250	»	»
3)	»	1,00	=	»	0,050	»	»
4)	»	1,5	=	»	0,075	»	»
5)	»	2,00	=	»	0,100	»	»
6)	»	2,5	=	»	0,125	»	»
				usw.			
21)	»	10,00	=	»	0,50	»	»

In jedes Probegefäſs goſs ich so viel destilliertes Wasser, bis ich im ganzen 10 ccm Flüssigkeit erreicht hatte. Auf diese Weise erreicht man eine Serie von 21 Probegefäſsen mit einem, im Verhältnis zu dem in jedem Probegefäſse enthaltenen Quantum Indol, progressive ansteigenden rosafarbigen Ton; um zu verhindern, daſs sich diese Lösungen in ihrem Farbenton verändern, habe ich die Probegefäſse mit Stöpseln und Paraffin abgeschlossen und in einem finsteren Raum aufbewahrt; und wenigstens für die Dauer der ganzen zu den Experimenten notwendigen Zeit habe ich keine Veränderung in der Farbe beobachten können. Dann säte ich die unter Prüfung stehenden Mikroorganismen in eine Serie von den vorerwähnten an Kaliber und Höhe vollkommen gleichen, je 5 ccm peptonisierte Fleischbrühe enthaltenden Probegefäſsen, indem ich die Schlinge in einer Kultur von Agar von 24 stündiger Entwickelung infektierte und eine stets gleiche Quantität von Keimen zu transportieren trachtete. In verschiedenen Zeitabschnitten fügt man 2,50 ccm von der Paradimethylamido-benzaldheyd-Lösung und 2,50 ccm von der mit Kalipersulfat getränkten Wasserlösung hinzu: man schüttelt und wartet eine Stunde lang, bis die rosige Lösung die höchste Intensität erreicht hat.

Wenn man die Farbe der Kulturflüssigkeit mit der vorher bereiteten metrischen Farbenskala vergleicht, kann man mit genügender Genauigkeit das vom Mikroorganismus in 5 ccm Fleischbrühe erzeugte Quantum Indol berechnen; wenn man mit 20 multipliziert, so ergibt sich das Quantum Indol für je 100 ccm Kultur.

Auf diese Weise verfahrend, sind folgende Resultate erzielt worden:

Metchnikoffs V.

Alter der Kultur	Indol-Quantum pro 100 ccm Kultur.
2 Std.	— nicht dosierbares Quantum
4 »	— » » »
6 »	— mg 0,5
10 »	— » 1,—
16 »	— » 1,40
24 »	— » 2,—
2 Tage	— » 3,80
4 »	— » 5,—
6 »	— » 6,90
10 »	— » 8,—
15 »	— » 8,50
20 »	— » 11,—
30 »	— » 7,—

V. der Ägyptischen Cholera.

Alter der Kultur	Indol-Quantum pro 100 ccm Kultur.
2 Std.	— nicht dosierbares Quantum
4 »	— » » »
6 »	— » » »
10 »	— mg 0,50
16 »	— » 0,90
24 »	— » 1,80
2 Tage	— » 3,00
4 »	— » 5,60
6 »	— » 7,30
10 »	— » 9,—
15 »	— » 11,—
20 »	— » 12,—
30 »	— » 8,—

V. Cholera A.

Alter der Kultur	Milligr. Indol pro 100 ccm Kultur.
2 Std.	— nicht dosierbares Quantum
4 »	— » » »
6 »	— » » »
10 »	— mg 0,40
16 »	— » 0,70
24 »	— » 1,25
2 Tage	— » 5,50
4 »	— » 6,25
6 »	— » 8,12
10 »	— » 10,—
15 »	— » 12,—
20 »	— » 11,—
30 »	— » 6,—

V. Cholera (C. Ronald).

Alter der Kultur	Milligr. Indol pro 100 ccm Kultur.
2 Std.	— mg 0,—
10 »	— » 0,—
16 »	— nicht dosierbares Quantum
24 »	— mg 0,50
2 Tage	— » 1,10
4 »	— » 2,—
6 »	— » 2,90
10 »	— » 3,40
15 »	— » 3,70
20 »	— » 3,50
30 »	— » 3,20

Bacterium coli.

Milligr. Indol pro 100 ccm Kultur.

Alter der Kultur		Alter der Kultur	
2 Stunden	— mg 0,—	2 Tage	— mg 3,70
4 »	— nicht dosierbares Quantum	4 »	— » 5,—
6 »	— mg 0,40	6 »	— » 5,60
10 »	— » 0,70	10 »	— » 6,30
16 »	— » 1,—	15 »	— » 6,10
24 »	— » 1,80	20 »	— » 5,90
		30 »	— » 4,80

Wie aus diesen Experimenten hervorgeht, ist das von den verschiedenen Mikroorganismen erzeugte Quantum Indol sehr verschieden.

Dieses Quantum wächst im allgemeinen progressiv bis zum 15. bis 20. Alterstage der Kultur und nimmt dann ab.

Marshall bestimmte das vom Bacterium coli und vom choleraerzeugenden Vibrio erzeugte Indol-Quantum, indem er immer zur Destillation der mikrobischen Kultur schritt, um dann am Destillat die quantitative Determination vermittelst farbemetrischer Schätzungen zu machen.

Ich habe geforscht, mit Berücksichtigung dieser Vorsicht, welche die Methode sehr kompliziert und daher unpraktisch macht, ob die erreichten Resultate von den meinigen, welche ich durch die direkte Forschung des Indols an der Kultur mache, ohne zur Destillation zu schreiten, abweichen. Zu diesem Behufe destillierte ich die Kulturen vermittelst eines besonderen Destillierkolbens, und mit den Destillaten machte ich die Probe mit der neuen Methode.

Ich erhielt folgende Resultate:

Indol-Quantum in 10 ccm Destillat.

Alter der Kultur		Metchnikoffs V.	Bact. coli.
2 Stunden	mg	Spuren	0
4 ›	›	›	Spuren
6 ›	›	0,5	0,20
10 ›	›	1,—	0,50
16 ›	›	1,30	0,80
24 ›	›	1.80	1.50
2 Tage	›	3,70	3,—
4 ›	›	5,—	4,80
6 ›	›	6,80	5,50
10 ›	›	8,—	6,—
15 ›	›	7,—	6,10
20 ›	›	10,50	5,40
30 ›	›	6,—	5,—

Wie man sieht, sind diese Resultate wenig verschieden von den vorher ohne Destillation der Kulturen erreichten, und sind

die kleinen vorhandenen Unterschiede leicht erklärlich, wenn man auf die unvermeidlichen Fehler in der Technik Rücksicht nimmt. Diese Tatsache ist wichtig, weil durch Weglassung des Destillationsverfahrens an den Kulturen die quantitative Feststellung des Indols mit der neuen Ehrlichschen und von mir verfolgten Methode eine sehr leichte Operation wird, welche keine delikate Manipulation erheischt und deshalb in der bakteriologischen Praktik anwendbar wird.

Auf Grund der aus den verschiedenen von mir gemachten Experimenten erlangten Resultate glaube ich folgende Schlüsse ziehen zu können:

1. Die Methode Ehrlichs zur Forschung des Indols in den bakterischen Kulturen ist der Methode Salkowskis vorzuziehen.

a) Dieselbe erlaubt, diese Angabe der bakteriologischen Diagnosis rasch festzustellen: es ist in der Tat möglich, das Vorhandensein von Indol in Kulturen im Alter von 2—4 Stunden festzustellen.

b) Dieselbe gibt sehr genaue und konstante Resultate und vermeidet den Fehler, zu welchem gewisse Substanzen führen, die ebenfalls mit der alten Methode eine positive Reaktion geben, welche mit der neuen Methode nicht stattfindet.

2. Dieselbe eignet sich zu quantitativen Feststellungen des Indols vermittelst farbemetrischer Schätzungen.

3. Zur quantitativen Feststellung ist es nicht notwendig, zum langwierigen und schweren Verfahren der Destillation zu schreiten, nachdem die Resultate, welche mit der direkten Reaktion auf die Kulturen erreicht worden sind, jenen gleichkommen, welche mit den Destillaten erreicht werden.

4. Da wir eine grofse Serie von Vibrionen geprüft haben, so geht aus den vergleichlichen Experimenten hervor, dafs, was die Erzeugung von Indol betrifft, unter den verschiedenen Vibrionen, seien sie choleraerzeugende, aus den Gewässern oder

aus anderer Herkunft stammende, kein erheblicher Unterschied besteht.

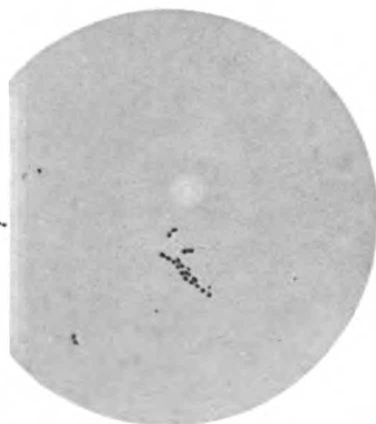
Bevor ich schliefse, fühle ich mich verpflichtet, dem geehrten Herrn Prof. P. Canalis für die mir im Institut gewährte Gastfreundschaft, und dem Herrn Privatdozenten G. Zirolia für die mir bei Ausführung gegenwärtiger Forschungen gewährte Unterstützung meine Dankbarkeit auszudrücken.



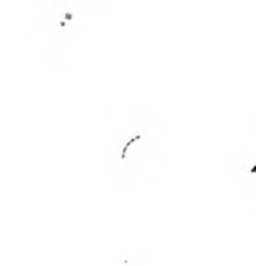
Streptococc. lact. Fig. 1. Bouillonkultur.



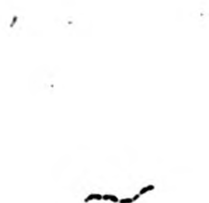
Streptococc. lact. Fig. 2. Bouillonkultur.



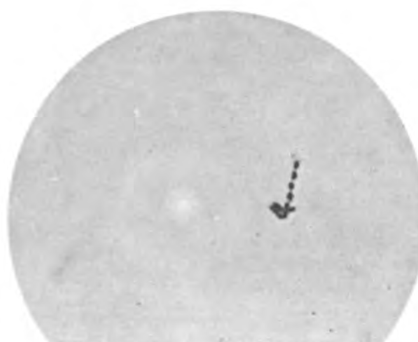
Streptococc. lact. Fig. 3. Milchzuckeragarplatte.



Streptococc. lact. Fig. 4. Agarplatte.



Streptococc. lact. Fig. 5. Milchkultur.



Streptococc. lact. Fig. 6. Milchkultur.

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.

Über die Anwendung des Peptons zur Anreicherung der Choleravibrionen.

Von

Dr. med. **Fukutaro Yoshinaga**,
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Kyoto.
Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Seitdem Schottelius zur Anreicherung der Choleravibrionen Peptonwasser angewandt hat, bestätigten Büchner, Dunbor, Koch, Bunham u. a., dafs das Peptonwasser für diesen Zweck wertvoll ist.

Heutzutage benutzen alle Bakteriologen zur Anreicherung von Choleravibrionen Pepton, und man verwendet allgemein zum bakteriologischen Gebrauch Pepton Witte oder Pepton Gehe, da die anderen Fabrikate dem Nährboden eine bräunlichrote Farbe verleihen, die das Auftreten der Rotreaktion zum Teil verdecken kann, was bei den beiden ersteren nicht der Fall ist. Im Jahre 1903 haben Tsuzuki und Miyasaki (Archiv für Schiffs- und Tropen-Hygiene Bd. 7, S. 311) mitgeteilt, dafs das Pepton Carl Rohde ein nützliches Präparat für die Choleravibrionenanreicherung ist und eine grofse Bedeutung für die Choleradiagnose hat. Die Frage, welches Pepton am zweckmäfsigsten ist, und warum sich der Choleravibrio in Peptonwasser schnell entwickelt und Kahmhaut bildet, habe ich unter Leitung des Herrn Prof. Matsushita einer erneuten Bearbeitung unterzogen. Es sei hier bemerkt, dafs ich bei dieser Be-

sprechung der Kürze wegen die vier Arten von Pepton, nämlich Pepton Witte, Pepton Gehe, Pepton Bender und Pepton Switzerland, welche hier in Betracht kommen, einfach W.-, G.-, B.- und S.-Pepton nennen will. Leider habe ich Pepton Carl Rohde in japanischen Städten nicht erhalten können.

Während im Wasser gelöstes W.-, G.- und B.-Pepton farblose und neutrale oder schwach alkalische Reaktion zeigt, löst sich das S.-Pepton bräunlichrot und zeigt eine schwach sauere Reaktion.

Mit den obengenannten Peptonarten habe ich schwach-alkalisches Peptonwasser (Pepton 1,0 + Kochsalz 0,5 + Wasser 100,0) hergestellt. Nach Sterilisation des Peptonwassers impfte ich Choleravibrionen und fand, dafs sich die letzteren auf S.-Peptonwasser bei einer Temperatur von 37° C schon nach 7 Stunden stark entwickeln und dünne Häutchen bilden, wie folgende Tabelle zeigt:

Namen des Nährbodens	Nach 7 Stunden	Nach 12 Stunden	Nach 24 Stunden
S.-Peptonwasser . . .	dünnes Häutchen auf der Oberfläche der schwach getrübten Flüssigkeit.	ziemlich dickes und etwas faltiges Häutchen auf der Oberfläche d. schwach getrübten Nährflüssigkeit.	dickes, faltiges Häutchen mit aufsteigendem Rande an der Wand der Oberfläche der sehr wenig getrübten Nährflüssigkeit.
W.-Peptonwasser . . .	keine Häutchenbildung. Nährflüssigkeit gleichmäfsig ganz schwach getrübt.	wie nach 7 Std. Trübung der Nährflüssigkeit etwas verstärkt.	dünnes Häutchen auf der gleichmäfsig getrübten Nährflüssigkeit.
G.-Peptonwasser . . .			
B.-Peptonwasser . . .			

Aus diesem Versuch geht hervor, dafs die Choleravibrionen im S.-Peptonwasser sich frühzeitig entwickeln und auf der Oberfläche des Nährbodens Häutchen bilden.

Dies ist bei der Choleradiagnose sehr von Vorteil. Die häutchenbildende Eigenschaft der Choleravibrionen auf dem S.-Peptonwasser ist keine spezifische, auch andere Bakterien haben diese Eigenschaft. Bei der Choleradiagnose kommen aber

nur einige Vibrioarten, Kolonbazillen von gleicher Eigenschaft in Betracht, denn sonstige Bakterien, z. B. der Bacillus subtilis, mesentericus u. a., lassen sich leicht von dem Choleravibrio durch einfache mikroskopische Untersuchung unterscheiden. Da sich im Kot oder Wasser manchmal andere häutchenbildende Bakterien befinden, hat hier die Isolierung von Choleravibrionen ihre Schwierigkeit.

Wie verhält es sich nun, wenn der Choleravibrio mit diesen häutchenbildenden Bakterien zusammen im Peptonwasser lebt und der Kampf ums Dasein zwischen ihnen ausgefochten werden muſs? Falls er von anderen Vibrionen überwuchert wird, hat bei der Choleradiagnose das Peptonwasser keinen groſsen Wert mehr, denn er würde bald verschwinden und sich schwerlich isolieren lassen. Ich habe mich deshalb bemüht, die Frage endgültig zu lösen. Zu diesem Zwecke brachte ich den Choleravibrio zusammen mit dem Bacillus coli communis, welcher ein Darmbewohner ist, und mit gewöhnlichem Brunnenwasser, welches verschiedene Bakterien enthält, in einen mit Peptonwasser gefüllten Kolben und untersuchte bei der Temperatur von 37° C nach 12 Stunden den Entwicklungszustand. Das Resultat war folgendes:

S.-Peptonwasser + Brunnenwasser W.- » + » G.- » + » B.- » + »	die Flüssigkeit fast klar; keine Häutchenbildung.
S.-Peptonwasser + Brunnenwasser + Choleravibrio	ziemlich dickes und faltiges Häutchen auf der Oberfläche der schwach getrübten Nährflüssigkeit. Der Choleravibrio ist nachweisbar.
W.-Peptonwasser + Brunnenwasser + Choleravibrio G.- » + » + » B.- » + » + »	kein Häutchen. Flüssigkeit gleichmäſsig getrübt. Cholaravibrionen nachweisbar.
S.-Peptonwasser + Bac. coli com. W.- » + » G.- » + » B.- » + »	Flüssigkeit stark getrübt; kein Häutchen bildend.

S.-Peptonwasser + Bac. col. com + Choleravibrio	ziemlich dickes und faltiges Häutchen auf der Oberfläche der mäfsig stark getrübten Flüssigkeit. Choleravibrionen nachweisbar.

W.-Peptonwasser	+	Bac. col. com.	+	Choleravibrio		Flüssigkeit insbesondere obere Schichten stark getrübt, aber kein Häutchen bildend. Choleravibrionen nachweisbar.
G.- »	+	»	+	»		
B.- »	+	»	+	»		

Aus diesem Resultat ist zu schliefsen, dafs

1. die mit dem Choleravibrio gemischte S.-Peptonwasserkultur nach 12 Stunden dicke Häutchen bildet, während auf den anderen drei Peptonwasserkulturen noch keine Häutchen sichtbar sind,
2. auf S.-Peptonwasser andere Wasserbakterien nach zwölf Stunden noch keine Häutchen bilden, und dafs
3. der Choleravibrio mit anderen häutchenbildenden Bakterien in Peptonwasser zusammen lebt.

Nun mufs man fragen, warum die Choleravibrionen in S.-Peptonwasser schnell Kahmhaut bilden. Die Ursache der häutchenbildenden Eigenschaften liegt nahe; die Erklärung für diese Tatsache ist in zwei Umständen zu suchen, nämlich einesteils darin, dafs gewisse zur Häutchenbildung geeignete Bestandteile im S.-Pepton in reichlicherer Menge als in den anderen Peptonfabrikaten vorhanden sind, andernteils darin, dafs die Beschaffenheit der einzelnen Bestandteile des S.-Peptons für die Häutchenbildung geeigneter ist als bei den anderen Peptonarten. Von diesen Gesichtspunkten ausgehend, habe ich mich bemüht, alle Peptonarten zu analysieren und festzustellen, welche Bestandteile auf die Häutchenbildung günstig einwirken, um damit zur Klärung jener Fragen einen Beitrag zu liefern.

Es ist schon bekannt, dafs das käufliche Pepton gewöhnlich aus Albumosen und sogenanntem Pepton besteht. Durch Analyse habe ich aus Pepton Heteroalbumosen, Protoalbumosen, sogenanntes Pepton und Deuteroalbumosen dargestellt; aus diesen Bestand-

teilen wurden jeweils 1 prozentige wässerige Lösungen hergestellt, die nach Zusatz von 0,5% Kochsalz sterilisiert wurden. Choleravibrionen entwickelten sich in solchen Nährflüssigkeiten bei einer Temperatur von 37° C nach 12 Stunden in folgender Weise.

Bei der Kultur von:

Heteroalbumosenlösung, Protoalbumosenlösung, Sogenannter Peptonlösung } sehr dünne Häutchenbildung auf der Oberfläche der gleichmäfsig leicht getrübten Nährflüssigkeiten.

Deuteroalbumosenlösung = kein Häutchen, Flüssigkeit trübt sich sehr leicht.

Die Folge der Analyse der verschiedenen Peptonarten zeigt aber, dafs im S.-Pepton Heteroalbumose, Protoalbumose und sogenanntes Pepton in viel geringerer Menge als in den anderen Peptonarten enthalten ist. Hieraus geht klar hervor, dafs die Häutchenbildung mit den oben genannten vier Bestandteilen nicht in Zusammenhang steht.

Da die Bakterienkörper hauptsächlich aus Eiweifskörpern gebaut sind und die Bakterien als Nährstoffe Kohlenstoff und Stickstoff brauchen, habe ich nach Kjeldahl den N.-Gehalt von allen Peptonartenbestimmt und fand als gesamten Stickstoffgehalt

bei S.-Pepton	. .	10,681%
» W.- »	. .	13,588 »
» G.- »	. .	11,871 »
» B.- »	. .	11,556 »

Es hat also der gesamte Stickstoffgehalt mit der Häutchenbildung nichts zu tun. Dann habe ich in allen Peptonarten die Albumosen, das sogenannte Pepton und die Aminosäure bestimmt. Das Resultat war folgendes:

	S.-Pepton	W.-Pepton	G.-Pepton	B.-Pepton
Albumosen . . . %	2,015	16,105	11,200	11,925
Sog. Pepton[1]) . . %	26,359	63,963	63,526	48,818
Aminosäure . . . %	58,063	17,919	20,161	18,463

Hieraus ersehen wir, dafs S.-Pepton Albumosen und sogenanntes Pepton in geringerer Menge als in den anderen Peptonarten enthält, während bedeutend mehr Aminosäure vorhanden ist.

1) Das sogenannte Pepton enthielt in kleiner Menge II. Albumose etc.

Es erübrigte noch, festzustellen, ob die Aminosäure oder ihre Bestandteile z. B. Aranin, Leuzin, Asparagin etc. bei der Häutchenbildung eine Rolle spielen.

Als Nährflüssigkeit benützte ich 1 prozentige wässerige Lösung, die 0,5 % Kochsalz enthält. Nach 12 Stunden entwickelten sich Choleravibrionen in folgender Weise:

In Aminosäurelösung: dünne Häutchen auf der Oberfläche der schwach getrübten Flüssigkeit. Entwickelung wie bei der Kultur der Hetero- und Protalbumoselösung.

In Araninlösung: keine Häutchenbildung. Flüssigkeit schwach getrübt.

In Leuzinlösung: dünne Häutchen auf der Oberfläche der stark getrübten Flüssigkeit.

In Asparaginlösung: dünne Häutchen auf der Oberfläche der schwach getrübten Flüssigkeit.

Endlich habe ich Albumosen, sogenanntes Pepton und Aminosäure nach dem Prozentgehalt, in welchem sie in S.-Pepton enthalten sind, gemischt und davon wässerige Nährflüssigkeit hergestellt. In dieser Nährflüssigkeit entwickelten sich Choleravibrionen nach 12 Stunden schwach und bildeten sehr dünne Häutchen auf der Oberfläche der schwach getrübten Flüssigkeit.

Aus den oben beschriebenen Beobachtungen ersehen wir, dafs durch Analysierung des Peptons keine spezifischen Bestandteile, die die Häutchenbildung der Choleravibrionen veranlassen, gefunden wurden. Hieraus kann man schliefsen, dafs einfache Lebewesen, wie Bakterien, sich mit nur einem Nährstoff nicht gut ernähren können, sondern dafs für gute Ernährung viele Nährstoffe nötig sind, und dafs bei S.-Pepton die Beschaffenheit der einzelnen Bestandteile höchstwahrscheinlich die Ursache der häutchenbildenden Eigenschaft ist und sie viel geeigneter als andere Peptonarten macht.

Trotzdem mir Vergleichungsversuche mit S.-Pepton und Pepton Rohde nicht möglich waren, glaube ich doch, dafs für die Choleradiagnose S.-Pepton viel besser ist als Pepton Rohde, weil nach einer Mitteilung von Tsutsuki und Miyasaki in Rohde-Peptonlösung der Choleravibrio erst nach 12 Stunden dünne Häutchen bildet, während sich bei der S.-Peptonkultur der Choleravibrio schon nach 7 Stunden üppig entwickelt und

Häutchen bildet, sogar Indol in deutlich nachweisbarer Menge produziert.

Kürzlich hat Sangai Shiga (Gun-i-gakuqwai-Sasshi Nr. 169 japanisch) mitgeteilt, dafs das Diastasewasser für Choleradiagnose zweckmäfsig sei. Nach meiner Nachprüfung ist es indessen viel schlechter als S.-Peptonwasser, weil die Vibrionen eine ziemlich schwache Entwickelung zeigen.

Sind die Alexine ein Endoenzym der Leukozyten?

Von

Dr. med. **Fukutaro Yoshinaga**,
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Kyoto.
Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Es ist eine längst bekannte Tatsache, daſs das Blut auſserhalb des lebenden Körpers bakterientötende Kraft besitzt. Das wirksame Prinzip dieser bakteriziden Stoffe des normalen Serums bezeichnete Buchner als Alexine. Diese sind nach Buchner, Hahn u. a. ein Produkt der Leukozyten, weil in leukozytenreichen Exudaten die bakterizide Wirkung stärker als bei leukozytenarmen Exudaten ist. Metschnikoff bestreitet überhaupt die Existenz von Alexinen im zirkulierenden Blut und hält sie nur für ein Absterbeprodukt der Leukozyten; die Alexine oder Cytasen verbleiben während des Lebens in den Zellen und treten erst ins Blut durch das Zugrundegehen der Phagozyten.

Es scheint mir, daſs die Frage über den Sitz der Alexine noch nicht ganz geklärt ist, trotzdem Schneider unter Leitung von Gruber beobachtete, daſs aus Leukozyten extrahierte bakterizide Stoffe nicht identisch mit Alexinen sind. Es lohnt sich deshalb das weitere Eingehen auf die Frage, die ich unter Leitung des Herrn Professor Matsushita einer erneuten Bearbeitung unterzogen habe.

Zunächst untersuchte ich, ob die Alexine in den Leukozyten ihren Ursprung haben. Um dieses zu beweisen, habe ich verschiedene Untersuchungen angestellt.

I. Beziehungen zwischen Alexingehalt und Leukozytenzahl im Blut.

Versuch I. Zu 2 ccm mit 0,85 prozentiger Kochsalzlösung willkürlich verdünntem Normalmenschen- und Leukämiekranken-Blutserum setzte ich frisch kultivierte Cholera- oder Typhusbakterien zu, stellte nach bestimmter Zeit bei der Temperatur von 37° C Plattenkulturen her, um die darauf entwickelten Kolonien und die bakterizide Wirkung des Blutserums zu kontrollieren.

Das Resultat ergibt die folgende Tabelle:

Tabelle I.

Arten des Serums	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 256 000 besäten Choleravibrionen				Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 111 250 besäten Typhusbazillen			
		nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.	nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Normalmenschenserum (spez. Gewicht des Blutes 1060; Verhältnis der roten zu d. weißen Blutkörperchen 318:1)	1:5	6 000	5 520	840	1 320	860	3 280	9 880	17 960
	1:10	40 000	85 600	88 000	155 600	4 240	8 260	11 200	24 580
	1:20	52 800	112 000	120 000	248 920	20 760	84 300	110 500	172 800
	1:50	660 000	116 000	836 000	1 592 000	28 300	89 940	128 000	290 760
	1:100	720 000	120 000	1 410 000	3 278 000	48 500	90 800	228 500	392 280
Leukämiekrankenserum (spez. Gewicht des Blutes 1035; Verhältnis der roten zu d. weißen Blutkörperchen 20:1)	1:5	0	0	0	0	200	40	0	0
	1:10	0	40	40	100	560	320	280	800
	1:20	600	40	40	120	1 640	2 000	3 600	4 800
	1:50	8 000	10 000	24 000	26 000	7 520	8 320	9 640	19 920
	1:100	14 000	400 000	320 000	390 000	16 600	28 400	50 000	48 000
Leukämiekrankenserum (spez. Gewicht des Blutes 1055; Verhältnis der roten zu d. weißen Blutkörperchen 19:1)	1:5	0	0	0	120	240	80	0	0
	1:10	10 000	22 000	46 000	166 000	800	320	480	840
	1:20	192 000	212 000	592 000	752 000	2 320	3 120	3 200	5 600
	1:50	210 000	364 000	880 000	1 320 000	8 300	16 600	24 800	35 000
	1:100	232 000	510 000	1 180 000	3 900 000	25 800	50 000	200 000	250 000

Versuch II. Um Leukozyten sich im Blut vermehren zu lassen, entnahm ich einem Hunde ca. 1/3 seines Blutes. Nach ca. 24 Stunden vermehrten sich die Leukozyten und die Erytrozyten wie 1:9.

Die Tabelle II (S. 184) zeigt die bakterizide Kraft dieses Serums.

Versuch III. Von einem Hund, welcher 12 kg Körpergewicht hat, entnahm ich ca. 250 ccm Blut. Ich untersuchte mit Serum, welches in dem zu verschiedenen Zeiten in der Menge von 10—15 ccm entleertem Blut enthalten war, die bakterizide Wirkung.

Das Resultat ergibt die Tabelle III (S. 184 u. 185).

Tabelle II.

Arten des Serums	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 256 000 besäten Choleravibrionen nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Normalhundeserum	1 : 5	0	0	0	0
(spez. Gewicht des Blutes	1 : 10	40	40	80	200
1060; Verhältnis der roten	1 : 20	640	720	1 000	1 600
zu den weifsen Blut-	1 : 50	1 600	5 600	6 400	25 600
körperchen 296 : 1)	1 : 100	100 000	136 000	300 000	2 080 000
Leukämiehundeserum	1 : 5	0	0	0	0
(spez. Gewicht des Blutes	1 : 10	0	0	0	0
1040; Verhältnis der roten	1 : 20	500	640	120	1 520
zu den weifsen Blut-	1 : 50	1 800	2 200	4 600	14 560
körperchen 9 : 1)	1 : 100	56 000	126 000	264 000	320 000

Bemerkung: Die Versuche mit Typhusbazillen ergaben ähnliche Resultate.

Tabelle III.

Arten des Serums	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 199 400 besäten Choleravibrionen nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Normalhundeserum. (Spez. Gewicht des Blutes 1060; Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 245 : 1)	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	40	120	120	200
	1 : 20	420	680	640	1 400
	1 : 50	3 320	5 800	16 000	22 000
	1 : 100	78 400	228 000	586 000	1 789 000
Leukämiehundeserum (24 Stunden nach Entblutung). Spez. Gewicht des Blutes 1042; Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 14 ; 1	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	0	0	0	0
	1 : 20	200	480	360	760
	1 : 50	1 600	2 000	6 500	18 000
	1 : 100	52 000	144 000	320 000	568 000
Leukämiehundeserum (30 Stunden nach Entblutung). Spez. Gewicht des Blutes 1033; Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 15 : 1	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	80	0	0	0
	1 : 20	180	360	560	1 200
	1 : 50	2 840	4 800	9 960	24 800
	1 : 100	46 800	186 000	336 000	1 088 000

Fortsetzung der Tabelle III.

Arten des Serums	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 199 400 besäten Choleravibrionen			
		nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Leukämiehundeserum (40 Stunden nach Entblutung). Spez. Gewicht 1034; Verhältnis der roten zu den weißen Blutkörperchen 18 : 1	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	40	40	30	0
	1 : 20	280	560	640	840
	1 : 50	5 280	3 240	4 800	19 600
	1 : 100	67 200	16 200	318 000	1 520 000
Leukämiehundeserum (72 Stunden nach Entblutung). Spez. Gewicht 1035; Verhältnis der roten zu den weißen Blutkörperchen 18 : 1	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	40	40	120	160
	1 : 20	240	440	560	1 000
	1 : 50	4 760	4 800	5 200	19 720
	1 : 100	54 800	170 000	296 000	718 000
Leukämiehundeserum (94 Stunden nach Entblutung). Spez. Gewicht 1015; Verhältnis der roten zu den weißen Blutkörperchen 15 : 1	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	40	0	0	80
	1 : 20	200	360	520	1 000
	1 : 50	2 840	3 320	8 600	17 800
	1 : 100	61 600	89 200	368 000	76 600
Leukämiehundeserum (135 Stunden nach Entblutung). Spez. Gewicht des Blutes 1040; Verhältnis der roten zu den weißen Blutkörperchen 18 : 1	1 : 5	0	0	0	0
	1 : 10	80	40	80	120
	1 : 20	320	320	640	1 200
	1 : 50	3 840	2 960	6 760	16 200
	1 : 100	56 000	160 000	420 000	1 220 000

Versuch IV. Durch Injektion von Aleuronat in die Bauchhöhle von Kaninchen erhaltenes leukozytenhaltiges Exsudat oder Normalkaninchenblut intravenös an Kaninchen injiziert. In bestimmter Zeit nach der Injektion wurde die bakterizide Wirkung des Serums untersucht.

Das Resultat war folgendes:

Tabelle IV.

Arten des Serums	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 347 100 besäten Choleravibrionen			
		nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Normalkaninchenserum vor Injektion von Exsudat. (Verhältnis der roten zu den weißen Blutkörperchen 319 : 1)	1 : 5	800	840	2 560	20 000
	1 : 10	8 160	8 000	12 000	166 000
	1 : 20	60 000	124 000	224 000	336 000
	1 : 50	64 000	280 000	280 000	408 000

Fortsetzung der Tabelle IV.

Arten des Serums	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter 347 100 besäten Choleravibrionen nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Kaninchenserum, welches nach Injektion von 52 000 Leukozyten enthaltendem Bauchexsudat nach 2 Std. erhalten wurde. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 195 : 1)	1 : 5	40	0	0	40
	1 : 10	240	40	40	140
	1 : 20	2 960	3 400	4 000	7 200
	1 : 50	131 200	392 000	840 000	1 140 000
Kaninchenserum, welches nach Injektion von 52 000 Leukozyten enthaltendem Bauchexsudat nach 8 Std. erhalten wurde. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 94 : 1)	1 : 5	40	0	0	0
	1 : 10	160	0	0	0
	1 : 20	1 860	160	120	360
	1 : 50	22 000	2 400	3 200	5 600
Kaninchenserum, welches nach Injektion von 52 000 Leukozyten enthaltend. Bauchhöhlenexsudat nach 72 Std. erhalten wurde. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 311 : 1)	1 : 5	720	1 120	2 400	2 800
	1 : 10	6 800	16 000	176 000	34 400
	1 : 20	64 000	60 000	192 000	284 000
	1 : 50	68 000	280 000	320 000	440 000
Normalkaninchenserum vor Injektion des Blutes. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 227 : 1)	1 : 5	1 000	1 600	1 680	3 000
	1 : 10	3 600	13 000	15 600	18 600
	1 : 20	42 000	72 000	142 000	140 000
	1 : 50	80 000	100 000	172 000	250 000
Kaninchenserum, welches nach Injektion von 268 000 Leukozyten enthaltendem Kaninchenblut nach 2 Std. erhalten wurde. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 121 : 1)	1 : 5	120	120	240	400
	1 : 10	560	1 000	840	2 600
	1 : 20	4 200	5 600	12 000	48 000
	1 : 50	56 000	48 000	64 000	136 000
Kaninchenserum, welches nach Injektion von 268 000 Leukozyten enthaltendem Kaninchenblut nach 8 Std. erhalten wurde. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 124 : 1)	1 : 5	0	0	40	80
	1 : 10	80	120	120	160
	1 : 20	4 800	5 600	28 200	64 800
	1 : 50	52 000	78 400	148 000	240 000
Kaninchenserum, welches nach Injektion von 268 000 Leukozyten enthaltendem Kaninchenblut nach 72 Std. erhalten wurde. (Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 225 : 1)	1 : 5	840	1 000	2 200	3 000
	1 : 10	2 400	5 400	12 000	16 000
	1 : 20	21 000	64 000	100 000	160 000
	1 : 50	96 000	120 000	180 000	220 000

Aus Versuch I—IV ersehen wir, dafs bei stark leukozytenhaltigem Blut die bakterizide Wirkung des Serums viel stärker ist als bei leukozytenarmem Blut, und dafs die bakterizide Wirkung mit den Leukozyten in inniger Beziehung steht.

2. Wie werden die Alexine beeinflufst, wenn die Leukozyten durch Leukozidin aufgelöst werden?

Versuch V. Um die Leukozyten in der Blutbahn aufzulösen, injizierte ich intravenös an Kaninchen ein Leukozidin, ein durch Kaninchenknochenmarkinjektion gewonnenes Hundeserum, und untersuchte nach einer bestimmten Zeit seine bakterizide Wirkung.

Das Resultat stelle ich in folgender Tabelle zusammen:

Tabelle V.

Serumarten	Verdünnung des Serums	Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter der Aussaat von 32 000 Choleravibrionen				Lebendig gebliebene Bakterienzahl unter der Aussaat von 11460 Typhusbazillen			
		nach 2 St.	nach 4 Std.	nach 6 Std	nach 8 Std.	nach 2 St.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 8 Std.
Vor der Injektion von Leukozidin. Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 289:1	1:5	150	200	580	620	48	56	52	68
	1:10	250	380	620	730	144	320	480	964
	1:20	300	570	1200	3120	360	580	1560	1880
Zwei Stunden nach Injektion von Leukozidin. Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 293:1	1:5	96	120	250	360	48	42	48	60
	1:10	200	210	280	420	100	160	280	560
	1:20	270	460	900	2350	260	480	860	1480
Acht Stunden nach Injektion von Leukozidin. Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 431:1	1:5	18	28	50	126	12	12	12	28
	1:10	130	125	270	350	56	100	160	320
	1:20	200	270	570	1820	180	400	640	1000
Sechsunddreifsig Stunden nach Injektion von Leukozidin. Verhältnis der roten zu den weifsen Blutkörperchen 296:1	1:5	100	130	140	400	50	48	56	64
	1:10	280	290	410	780	120	200	360	840
	1:20	290	330	590	2500	400	560	780	1540

Wie die Tabelle zeigt, werden die Leukozyten 8 Stunden nach der Injektion von Leukozidin fast zur Hälfte aufgelöst, und es ist die bakterizide Wirkung des Serums stärker geworden. Dieses verursachen selbstverständlich die durch Leukozytin aufgelösten Leukozyten und die dadurch frei gewordenen bakteriziden Stoffe. Hieraus können wir schliefsen, dafs die bakteriziden Stoffe oder Alexine durch Leukozyten gebildet werden.

Die oben beschriebenen Beobachtungen beweisen aber noch nicht, dafs die Alexine Endoenzyme der Leukozyten sind. Um hierüber Klarheit zu schaffen, stellte ich folgende Fragen:

1. Sind Leukozyten, welche in dem in gewöhnlicher Weise entnommenen Blut vorhanden sind, in ihrer Lebensfähigkeit abgeschwächt?
2. Sind die Alexine ein Produkt der Leukozyten?

Metschnikoff behauptet nämlich, dafs die bakterizide Wirkung des Serums von den bei der Entblutung durch mechanischen Reiz u. a. abgeschwächten oder abgetöteten Leukozyten durch Ausscheidung von Zytase verursacht wird, während Buchner dies bestreitet. Um diesen Streit zu lösen, untersuchte ich die Phagozytose der Leukozyten und fand, dafs die Leukozyten in vivo fast eine doppelt so starke phagozytische Wirkung auf Eiterkokken zeigen als in vitro.

	Bei mit Natriumzitrat- und Kochsalzlösung gewaschenem Meerschweinchenleukozyten	Bei mit Kochsalzlösung gemischtem Meerschweinchenblut	In Meerschweinchenbauchhöhle
Tiere Nr. 1 . .	6,0	6,0	11,0
» » 2 . .	5,9	5,8	15,7
» » 3 . .	6,7	5,8	14,6
» » 4 . .	5,6	5,3	13,2
Durchschnitt . .	6,1	5,7	13,6

Ferner habe ich nach Gengou mit Hilfe von paraffinierten Glasröhrchen das Blut entnommen und die phagozytische

Kraft der Leukozyten mit den auf gewöhnliche Weise gesammelten Leukozyten verglichen. Das Resultat ist folgendes:

Tabelle VI.

Von welchen Tieren stammen die Leukozyten?	Durchschnittszahl der Eiterkokken, welche von Phagozyten aufgenommen worden sind	
	bei Leukozyten, welche mit Hilfe von paraffinierten Glasröhrchen gesammelt sind	bei Leukozyten, welche in gewöhnlicher Weise gesammelt sind
Meerschw. Nr. 1 . .	10,1	5,4
» » 2 . .	10,0	5,7
Kaninchen	15,3	6,1
Hund Nr. 1 . . .	20,2	14,7
» » 2 . . .	33,0	17,9

Aus diesen Versuchen ersehen wir, dafs die Leukozyten, welche in dem auf gewöhnliche Weise entnommenen Blut vorhanden waren, in ihrer phagozytischen Kraft abgeschwächt sind.

Endlich fing ich das Hundeblut in Paraffinröhrchen auf und zentrifugierte es sofort in anderen Röhrchen, deren Wände ebenfalls mit Paraffin belegt waren; ferner isolierte ich die Flüssigkeit, welche dem Blutplasma ähnelt, und die Leukozyten. Die so aufgesammelten Leukozyten wurden mit 0,85 prozentiger Kochsalzlösung dreimal gewaschen. Ich verglich nun die bakterizide Kraft des Blutserums, der Flüfsigkeit, welche wie oben beschrieben dem Plasma ähnlich ist, und die den Leukozyten abgewaschene Kochsalzlösung mit den Leukozytensäften, welchen 7600000 Leukozyten in 2 ccm Kochsalzlösung bei einer Temperatur von 47—50° bzw. 15° C extrahiert worden sind. Das Resultat stelle ich in der folgenden Tabelle zusammen:

Tabelle VII.

Arten der untersuchten Flüssigkeiten	Dauer bei 37° C	Verdünnung		
		1 : 2	1 : 5	1 : 10
Blutserum	2 Std.	0	0	200
(Aussaat von 476000 Cholera-	4 »	0	0	350
vibrionen)	6 »	0	0	740

Fortsetzung der Tabelle VII.

Arten der untersuchten Flüssigkeiten	Dauer bei 37° C	Verdünnung 1 : 2	1 : 5	1 : 10
Die dem Plasma ähnliche Flüssigkeit (Aussaat wie oben)	2 Std.	6 400	30 000	200 000
	4 »	6 000	78 000	360 000
	6 »	12 800	88 000	578 000
Leukozytensaft, welcher bei der Temperatur von 47 bis 50° C 30 Min. lang extrahiert worden ist. (Aussaat wie oben.)	2 Std.	80	960	2 800
	4 »	80	2 000	3 200
	6 »	160	2 400	3 200
Leukozytensaft, welcher bei der Temperatur von 15° C 30 Min. eingetaucht war. (Aussaat wie oben.)	2 Std.	240	2 000	6 000
	4 »	440	2 800	12 000
	6 »	480	6 200	24 800
Den Leukozyten abgewaschene Kochsalzlösung (Aussaat wie oben.)	2 Std.	∞	∞	∞
	4 »			
	6 »			

Aus diesen Versuchen entnehmen wir die wichtige Tatsache, daſs durch Wärme oder Kälte abgetötete Leukozytensäfte eine starke bakterizide Kraft besitzen, während die den lebenden Leukozyten abgewaschene Kochsalzlösung keine, auch die dem Plasma ähnliche Flüssigkeit geringere Wirkungen zeigten.

Aus den oben geschilderten Beobachtungen können wir schlieſsen, daſs Alexine oder Zytasen Endoenzyme von Leukozyten sind, daſs dieselben erst nach Phagolyse ins Blut übertreten und daſs die Alexinmenge von der Leukozytenzahl abhängig ist. Es ist auch möglich, daſs die Alexine in der zirkulierenden Blutflüssigkeit in gröſserer oder kleinerer Menge zu finden sind, weil Leukozyten fortwährend in unserm Körper zugrunde gehen und Alexin frei wird. Aus diesem Grunde ist es nicht zu verwundern, daſs die Glaskörperflüssigkeit und andere zellfreie Körpersäfte bakterizide Kraft besitzen.

Über die agglutinable Substanz.

Von

Dr. med. **Hikoshiro Ohyosa**,
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto. Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Ob die agglutinable Substanz im Bakterienkörper gleichmäſsig verteilt ist oder ob dieselbe sich nur in den Hüllen oder den Auſsenschichten befindet, ist heute noch Gegenstand von Erörterungen. Veränderungen an den Auſsenschichten supponierte Gruber als die Ursache für das Zustandekommen der Agglutination. Malvoz[1]) beobachtete, daſs gewaschene Typhusbazillen des Filterrückstandes inagglutinabel sind. Harrison[2]) ging von der Vorstellung aus, daſs die agglutinable Substanz nur in den äuſseren Schichten der Mikroben enthalten sei und versuchte eine solche Modifikation der Bakterien herbeizuführen, bei welcher namentlich diese äuſseren Schichten zerstört würden; er fand ein Mittel in der Einwirkung der Pyocyanase. Er mischte derselben 24 Stunden alte Typhuskulturen zu, die nach 17 stündiger Einwirkung durch Berkefeldfilter filtriert wurden. Mikroskopisch erscheinen die Typhusbazillen schmäler als normal; das Filtrat gibt in zwei Stunden ein reichliches Sediment. Wenn die Pyocyaneusbazillen zweimal gewaschen, dann unter Thymolzusatz sechs Stunden geschüttelt und neuerdings in sterilem Wasser wieder gewaschen waren, so wurden sie in einem Versuche inagglutinabel gefunden, während sie bei einem anderen Versuche bei einem sehr starken Serum (1:40000) nur noch in der Ver-

dünnung 1:1000 agglutinabel waren. Harrison schließt aus dem Ausgang dieses Versuches, daß die agglutinable Substanz den äußeren Schichten des Bakteriums angehöre und beurteilt daraufhin die Theorien über den Vorgang selbst. Paltauf[3]) hat Harrisons Angaben nicht bestätigt. Er fand die mittels Pyocyanase behandelten äußeren Schichten zerstört und alle Zeichen der Plasmolyse; die Typhusbazillen zeigten aber immer noch den Eintritt zur Agglutination an. Dieneur[4]) sagte, daß diese Erscheinung auf die Zerstörung der Cilien zu beziehen sei. Defalle[5]) untersuchte einerseits geißeltragende Bakterien und andererseits solche mit Kapseln. Er fand die beste agglutinogene Wirkung bei den reichgegeißelten Typhusbazillen gegenüber den geißellosen und wenig beweglichen Milzbrandbazillen. Nach einer Injektion zeigte das Serum bei ersteren Agglutinationen in der Verdünnung 1:70, bei letzteren nur 1:15. Beim Immunserum mit Bacillus capsulatus Herla erlangte das Serum bei Hunden Wirksamkeit bei Verdünnung 1:170 und kam nach fortgesetzten Injektionen auf die Stärke 1:200, während beim Friedländer-Bazillus das Immunserum 1:1 den homologen Stamm, in beträchtlicher Verdünnug aber den Bazillus capsulatus agglutinierte, ohne daß dieses Serum den Friedländerschen Bazillus beeinflußte. Defalle sieht in diesen beiden Mikroben, von denen der eine in der Kultur enorme Schleimkapseln zeigt (Bac. capsulatus), während der andere so gut wie frei von eigentlichen Schleimhüllen ist, ein Beispiel für die große Bedeutung des verschiedenen Verhaltens der Schleimkapseln. Jedenfalls ist hierbei die agglutinogene Wirkung des Friedländerschen Bazillus, ohne daß er selbst agglutinabel ist, bemerkenswert. Smith und Reagh[6]) glauben, dem Bakterienkörper und den Geißeln verschiedene agglutinable Substanzen, dementsprechend verschiedene Agglutinine zusprechen zu können; sie untersuchten den beweglichen Bazillus der Hogcholera und einen unbeweglichen, welchen sie identifizierten; das Serum des ersteren ist viel kräftiger als das des letzteren, verliert durch Absorbtion mit letzterem (Körpersubstanz) nichts an seiner Wirksamkeit für den beweglichen. Allem Anscheine nach handelt es sich um Partialagglutinine bei zwei nicht identischen Bazillen.

Vor allem ist es eine Tatsache, dafs die reichgegeifselten Bakterienarten eine viel stärkere agglutinogene Wirkung besitzen als die geifselarmen oder geifsellosen Bakterienarten; infolgedessen scheint es, dafs die Geifseln für die Agglutination eine grofse Bedeutung haben; doch ist hervorzuheben, dafs bewegungslose Bakterien sich auch gut agglutinieren, wie der Choleravibrio, der eine Geifsel trägt, und das stark begeifselte Bacterium coli, bei dem man bekanntermafsen grofse individuelle Variationen findet.

Aus solchen Tatsachen läfst sich nicht ohne weiteres schliefsen, ob die agglutinable Substanz in den Aufsenschichten der Bakterien oder in den Geifseln sitzt. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, habe ich mich mit der Untersuchung der agglutinablen Substanz der Blutkörperchen, bei welchen die Innensubstanzen aus Hüllen leichter trennbar sind als bei Bakterien, beschäftigt, um zur Klärung jener Fragen einen Beitrag zu liefern.

Um Hühnerblutkörperchenimmunserum herzustellen, setzte ich Hühnerblutkörperchen die gleiche Menge 1prozentiger Natriumzitratlösung zu und zentrifugierte sie. Die Niederschläge, d. h. die Blutkörperchen, wurden mittels 0,85% Kochsalzlösung dreimal gründlich gewaschen und endlich 3 ccm Blutkörperchen Kaninchen intravenös injiziert. Eine zweite Injektion folgte nach 10 Tagen in derselben Weise.

Andererseits setzte ich den mit Kochsalzlösung gut gewaschenen Blutkörperchen kleine Mengen von aq. dest. zu. Nach dem Eintritt der Hämolyse wurde zentrifugiert, und es erfolgte zweimal die intravenöse Injektion dieser roten Flüssigkeit bei Kaninchen. (Ich nenne dasselbe Hämoglobinimmunserum.) Der Bodensatz (d. h. Stroma) wurde mit Kochsalzlösung öfters gut gewaschen und gänzlich von Hämoglobin befreit. Das farblose Stroma wurde ebenso zweimal Kaninchen in die Ohrvene injiziert. Ich bezeichne dasselbe als Stromaimmunserum.

Zu diesen drei verschiedenen Immunsera, die ich von Kaninchen durch Injektion des Hämoglobin oder der Stroma der Hühnerblutkörperchen gewonnen habe, und zu Normalkaninchenserum

setzte ich Hühnerblutkörperchen oder deren Hämoglobin und beobachtete bei einer Temperatur von 35° C die nach 2 und 4 Stunden auftretende Agglutination. Das Resultat war folgendes:

		In Verdünnungen						
		× 10	× 25	× 50	× 100	× 200	× 300	× 500
Normalkaninchenserum + Hühnerblutkörperchen	nach 2 Std.	+	+	S	—	—	—	—
	› 4 ›	ɸ	+	+	—	—	—	—
Blutkörperchenimmunserum + Hühnerblutkörperchen	› 2 ›	ɸ	ɸ	ɸ	+	+	+	+
	› 4 ›	ɸ	ɸ	ɸ	ɸ	+	+	+
Hämoglobinimmunserum + Hühnerblutkörperchen	› 2 ›	+	—	—	—	—	—	—
	› 4 ›	+	+	—	—	—	—	—
Stromaimmunserum + Hühnerblutkörperchen	› 2 ›	ɸ	ɸ	+	+	?	?	—
	› 4 ›	ɸ	ɸ	ɸ	+	+	+	+
Normalkaninchenserum + Hühnerhämoglobin	nach 2 Std.	S	?	?	—	—	—	—
	› 4 ›	+	S	?	—	—	—	—
Blutkörperchenimmunserum + Hühnerhämoglobin	› 2 ›	+	?	—	—	—	—	—
	› 4 ›	+	+	—	—	—	—	—
Hämoglobinimmunserum + Hühnerhämoglobin	› 2 ›	+	+	+	—	—	—	—
	› 4 ›	ɸ	ɸ	+	+	+	—	—
Stromaimmunserum + Hühnerhämoglobin	› 2 ›	—	—	—	—	—	—	—
	› 4 ›	+	—	—	—	—	—	—

Erklärung der Zeichen der Tabelle.

— = keine Agglutination.
? = zweifelhafte Agglutination.
S = sehr schwache Agglutination.
+ = mäſsige Agglutination.
ɸ = sehr deutliche Agglutination.

Wie vorstehende Tabelle zeigt, haben die Blutkörperchen sich in 500fach verdünntem Blutkörperchenimmunserum und Stromaimmunserum agglutiniert, während sich in Hämoglobinimmunserum und Normalserum diese Erscheinungen nur in schwacher Verdünnung (1:25 oder 50) zeigen. Im Gegensatz hierzu wird Hämoglobin nur bei Hämoglobinimmunserum reagieren.

Aus diesen Beobachtungen geht deutlich hervor, dafs die agglutinable Substanz von Blutkörperchen in Stroma vorhanden ist, und dafs im Innern der Blutkörperchen (Hämoglobin) eine den Innensubstanzen entsprechende agglutinable Substanz enthalten ist. Bei bakteriologischen Arbeiten beobachten wir nicht selten, dafs durch Tierpassagen unbeweglich gewordene Choleravibrionen sich bei homologenem Immunserum sehr stark agglutinieren, während sie bei heterologenem Serum aufeinander relativ schwach reagieren. Es ist eine bekannte Tatsache, dafs diese Erscheinungen bei geifseltragenden Bakterien schneller und deutlicher als bei geifsellosen Bakterien auftreten. Tsujitani, Assistent am hiesigen Institut, hat beobachtet, dafs auf Immunserum von durch Meerschweinchenpassagen getrennten, unbeweglichen Choleravibrionen die homologenen Vibrionen nur bei der Verdünnung 1:300 reagieren, während dies bei beweglichen Choleravibrionen bei einer Verdünnung von 1:500 der Fall ist. Hieraus können wir schliefsen, dafs nicht nur an Bakterienaufsenschichten, sondern auch an Geifseln verschiedene agglutinable Substanzen vorhanden sind.

Literatur.

1. Malvoz, Ann. Pasteur 1897.
2. Harrison, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 30.
3. Paltauf, Handbuch von Kolle und Wassermann Bd. 4.
4. Dieneur, ebendaselbst.
5. Defalle, Ann. Pasteur 1902.
6. Smith und Reagh, Handbuch von Kolle und Wassermann Bd. 4.

Über die Verschiedenheit der Normalopsonine.

Von

Dr. med. **Hikoshiro Ohyosa,**
Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto. Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Über die Frage, ob es im Normalserum ein einheitliches oder viele und spezifische Opsonine gibt, findet man bis jetzt nur ein Experiment von Bulloch und Western[1]) (1907). Beide sind der Meinung, dafs die Normalopsonine spezifisch sind. Verschiedene Wahrscheinlichkeitsgründe hatten allerdings schon früher diese Annahme nahe gelegt. In der Tat sehen wir, dafs einerseits bei Infektionskrankheiten der opsonische Index nur dem Bakterium gegenüber herabgesetzt ist, das ursächlich in Betracht kommt, und dafs er andererseits bei künstlicher Immunisierung ausschliefslich dem injizierten Bakterium gegenüber gesteigert wird. Ich habe auch über die Verschiedenheit der Normalopsonine mit dem Bacillus typhosus, dysenteriae, Micrococcus pyogenes aureus und Streptococcus pyogenes einen Versuch unternommen.

Um diese Frage klar zu lösen, untersuchte ich zuerst, ob der opsonische Index des auf einen bestimmten Grad erwärmten Serums je nach der Bakterienart verschieden ist. Zu ca. 4 ccm bei einer Temperatur von 50°, 55° und 60° C 30 Minuten lang erwärmten Rindernormalserums habe ich 2 Tropfen Meerschwein-

chenbauchhöhlenexsudat, welches die Leukozyten enthielt, und Bakterienemulsion (bei 37° C 24 Stunden lang kultivierte Agarkultur 10 Osen + 0,85% Kochsalzwasser 3 ccm) zugesetzt. Das Gemisch wurde bei 37° C 30 Minuten lang erwärmt und nach Giemsa gefärbt; sodann wurden die in 30 Leukozyten enthaltenen Bakterien gezählt. Das Resultat ist in der folgenden Tabelle enthalten. Es ist selbstverständlich, dafs dem Meerschweinchenbauchhöhlenexsudat, welches zu diesem Versuch angewandt wurde, das Serum beigemengt ist; deshalb habe ich zur Kontrolle gleichzeitig mit Exsudat einen Versuch gemacht, welches mit physiologischer Kochsalzlösung 3mal gewaschen und möglichst von beigemengtem Serum befreit wurde.

Arten der Bakterien	Leukozyten	Durchschnittszahl der phagozytierten Bakterien			
		Normalrinderserum	Erwärmtes Normalrinderserum bei		
			50° C	55° C	60° C
Bacillus typhosus	nicht gewaschen	16,2	7,7	5,1	4,2
	gewaschen	14,0	6,2	4,0	0,8
Bacillus dysenteriae	nicht gewaschen	15,0	7,4	6,0	4,4
	gewaschen	13,9	7,2	3,2	1,2
Micrococcus pyog. aureus	nicht gewaschen	26,6	12,3	9,4	6,2
	gewaschen	18,0	11,2	5,9	2,5
Streptococcus pyogenes	nicht gewaschen	25,0	13,2	12,0	7,4
	gewaschen	19,2	7,1	6,3	2,3

Aus diesem Versuch geht mit voller Deutlichkeit hervor, dafs die Normalopsonine durch Erwärmung allmählich vernichtet werden und dafs der opsonische Effekt, wie Neufeld und Rimpau[2]), Leishman[3]) und Dean[4]) meinen, durch auf 60° C 10—15 Minuten dauernde Erhitzung nicht ganz aufgehoben wird, sondern dafs sogar für 30 Minuten lang auf 60° C erhitztes Serum die Durchschnittszahl der phagozytierten Bakterien noch 0,8—7,5 beträgt; das Opsonin ist deshalb nicht so labil wie es v. Wright darstellt. Aufserdem wissen wir, dafs der opsonische Index je nach der Bakterienart verschieden ist.

Um aus dem Serum eines gewissen Bazillen die entsprechende Opsonine zu entfernen, habe ich zu 20 ccm Normalrinderserum 10 Agarröhren von 24 Stunden lang kultivierten Typhusbazillen gemischt, das Gemisch 30 Minuten lang in eine Temperatur von 37° C gelegt und dann zentrifugiert. Zu den durch Zentrifugierung abgeschiedenen Flüssigkeiten oder dem Bodensatz wurden andere Bakterien und Meerschweinchenleukozyten zugesetzt und die opsonische Wirkung untersucht.

Das Resultat war folgendes:

Arten der Bakterien	Normalrinderserum	Zu dem Normalrinderserum den Typhusbazillus zugesetzt und zentrifugiert	
		klare Flüssigkeit	Bodensatz
Bacillus typhosus	16,2	5,4	23,0
Bacillus dysenteriae	15,4	6,9	—
Micrococcus pyogenes aureus .	25,6	24,0	23,5
Streptococcus pyogenes . . .	25,0	19,7	20,8

Aus diesem Versuch ersehen wir, dafs in dem mit Typhusbazillen vorbehandelten Serum die passenden Opsonine mit Typhusbazillen verbunden und niedergeschlagen wurden, während die Opsonine für Mikrokokken und Streptokokken noch in der Serumflüssigkeit übrig geblieben sind.

Endlich habe ich noch andere Versuche unternommen; ich habe zu 20 ccm Normalrinderserum 10 Agarröhren des Bacillus typhosus oder Micrococcus pyogenes aureus zugesetzt, die 24 Stunden lang bei 37° C kultiviert wurden; um die im Serum vorhandenen entsprechenden Opsonine mit den Bakterien sich binden zu lassen, bewahrte ich sie 30 Minuten lang bei 37° C auf und filtrierte sie dann mittels Tonfilters. Dem Filtrat wurden die verschiedenen Bakterien und Leukozyten zugesetzt, und die nach 30 Minuten bei 37° C phagozytierte Bakterienzahl wurde festgestellt. Das Resultat stelle ich in folgender Tabelle zusammen.

Arten der Bakterien	Meerschweinchen-leukozyten	Normal-rinder-serum	Filtrat von mit Typhus-bazillen vorbehan-deltem Serum	Filtrat von mit dem Mic. pyogenes aureus vorbe-handeltem Serum
Bacillus typhosus . . .	ungewaschen	16,2	4,4	14,5
	gewaschen	14,0	2,8	12.3
Bacillus dysenteriae . .	ungewaschen	15,0	5,6	14,0
	gewaschen	13,9	3,2	12,4
Micrococcus pyog. aureus	ungewaschen	26,6	24,6	6,2
	gewaschen	18,0	16,6	2,9
Streptococcus pyogenes .	ungewaschen	25,0	23,4	16,3
	gewaschen	19,2	18,0	11,8

Hierdurch konnte ich feststellen, dafs die Normalopsonine spezifisch sind. Es nimmt nämlich im Filtrat von mit Typhusbazillen vorbehandeltem Serum der opsonische Effekt gegen Typhusbazillen sehr bedeutend ab, während er gegen den Streptococcus und Micrococcus pyogenes im Verhältnis zum Normalserum fast keine Differenz zeigt. Aufserdem sehen wir, dafs der opsonische Index in mit Micrococcus pyogenes vorbehandeltem Serumfiltrat nur dem Bakterium gegenüber herabgesetzt wird. Dies liegt daran, dafs das Sinken des Index blofs diesem einen Bakterium gegenüber stattfindet, da die zu dem bei der Vorbehandlung verwendeten Bakterium passenden Opsonine sich mit diesem verbinden und nicht mehr im Serum frei bleiben, während die anderen für dasselbe Bakterium nicht geeigneten Opsonine intakt bleiben.

Bei den oben beschriebenen zwei Versuchen finden wir, dafs in dem mit Typhusbazillus vorbehandelten Serum nicht nur für den Typhusbazillus, sondern auch für den Dysenteriebazillus der opsonische Index herabgesetzt ist. Die Ursache hierfür liegt höchstwahrscheinlich darin, dafs die Opsonine für beide Bakterien sehr nahe verwandt sind.

Literatur.

1. Bulloch und Western, Ergebnisse der allgemeinen Pathologie. XI. Jahrg. 749.
2. Neufeld und Rimpau, Deutsche med. Wochenschrift. XXX. Jahrg. 1904, S. 1458 und Zeitschrift für Hygiene. Bd. LI. 1905, S. 283.
3. Leishman, Journ. Hygiene 1905. Vol. V. 380.
4. Dean Zentralbl. f. Bakteriologie. Abt. I, Ref. Bd. XXXVII. 1905, S. 349.

Bacillus thermophilus vranjensis.

Von

Dr. **Peter Georgevitch.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Im September des vorigen Jahres hatte ich die Gelegenheit, das heifse Wasser aus der Therme bei Vranje im südöstlichen Serbien zu untersuchen und konnte dabei beobachten, dafs in dem schwefelhaltigen Wasser dieser Therme ein stäbchenförmiger Bazillus bei einer Temperatur von über 70° C gedeiht.

Die erste Untersuchung über diesen Bazillus nahm ich im vorigen Jahre im zool. Institut der Universität zu Belgrad vor und vollendete meine Beobachtungen in diesem Jahre im hygienischen Institut der Universität zu Berlin, zum Teil auch in »Jodrell Laboratory« in Kew Gardens bei London.

Die bis jetzt untersuchten und beschriebenen thermophilen Bazillen stammen gröfstenteils aus der Erde, aus der Luft, aus dem Flufswasser und anderen Abwässern, und nur eine geringere Anzahl wurde auch aus dem heifsen Wasser der Thermen gezüchtet und beschrieben.

Es sind dies die sog. Schwefelbakterien, die ihr Gedeihen in H_2S-haltigem Wasser finden.

So haben Certes et Garigon[1]) einen im heifsen Wasser von Luchon vorkommenden kurzen, beweglichen Bazillus und

---

1) De la présence de micro-organismes dans les eaux de Luchon, recueillies au griffon à la température de 64° C et de leur action sur la production de la barégine. Comptes rendus Acad. de Sc. Paris. T. 103, 1886.

auch einen seltener zu findenden unbeweglichen Bazillus beschrieben. Diese gedeihen bei einer Temperatur, die nicht 50° C überschreitet, und bilden sog. »masse de barégine«, die nichts anderes sind als die Zoogloeamasse bestehend aus den Bazillenstäbchen, die mit reduzierten Schwefelkörnchen gemengt sind.

Winogradksy S.[1]) beschrieb die im H_2S-haltigen Wasser aus vier Schwefelquellen (Bad Langenbrück in Baden und drei Thermen in der Schweiz — Umgebung des Thunersees) vorkommenden Beggiatoafäden als einen schneeweifsen, dichten, die ganze vom Wasser bespülte Oberfläche bedeckenden Beggiatoensammet.

Karlinski[2]) hat zwei Arten von thermophilen Bazillen aus dem heifsen Wasser der Therme Ilidze bei Sarajevo (Bosnien) gezüchtet, und zwar: Bacillus Ludwigi und Bacillus Ilidzensis capsulatus.

Der erstere bildet dicke, kurze, unbewegliche Stäbchen, die keine Sporen produzierten. Sein Temperaturminimum liegt bei 50° C; Temperaturoptimum bei 55—57° C, und bei 80° C wächst er nicht mehr. Auf Kartoffelscheiben und Agar bildet dieser Bazillus lichtgelbe saftige Rasen.

Bacillus Ilidzensis capsulatus bildet dagegen ziemlich lange Stäbchen, »an denen eine deutliche Kapsel nachzuweisen war. . .« Auf Kartoffelscheiben bildet er kreisrunde, flache, porzellanartig glänzende Kolonien; auf Agar bildete er nach 24 Stunden mattweifse Kolonien. In der Stichkultur zeigte er nur oberflächliches Wachstum. Sein Temperaturminimum liegt bei 50° C, Temperaturoptimum bei 59—60° C und Temperaturmaximum bei 60—70° C. Dieser Bazillus bildete in der Mitte gelegene Sporen.

M. Teich, Provisor[3]), untersuchte ebenfalls das Wasser der Ilidze-Therme, konnte aber die beiden, von Karlinski beschriebenen Bazillenarten nicht wieder auffinden. Dagegen konnte er eine neue Bazillenart züchten, welche teils kurze

1) Über die Schwefelbakterien. Bot. Ztg. 1887.

2) Hyg. Rundschau, Bd. V, 1895.

3) Hyg. Rundschau, Bd. VI, 1896.

Stäbchen, teils aber »auch lange, wurmförmige hin und her gebogene Fäden« bildeten. Dieser Bazillus bildet ovale, endständige Sporen und besafs Eigenbewegung. Bemerkenswert ist es, dafs »trotz Übertragung gröfserer Partien des Bazillus auf Kartoffeln . . . kein Wachstum bei 54—58° C auf diesem Nährboden erzielt werden« konnte.

Auf Serumröhrchen bildete dieser Bazillus weifse, rundliche Kolonien mit unregelmäfsig buchtigem Rande und verflüssigt das Serum.

Monaba Miyoshi[1]) hat einen im Wasser der Therme von Yumoto bei Nikko vorkommenden und Schwefelrasen bildenden Bazillus beschrieben. Aufserdem hat er auch rote Schwefelbakterien aus demselben Wasser gezüchtet.

Aus diesem kurzen Überblicke der Literatur kann man ersehen, dafs der von mir gezüchtete und in dieser Abhandlung beschriebene Bacillus thermophilus vranjensis mit keinem der in Thermen vorkommenden und schon beschriebenen Bazillen zu identifizieren ist. Er unterscheidet sich aber wesentlich auch von den in anderen Medien (Luft, Wasser, Erde) vorkommenden und beschriebenen thermophilen Bazillen, so dafs ich annehmen kann, eine neue Bazillenart gezüchtet zu haben.

Bacillus thermophilus vranjensis ist ein ausgeprägter Schwefelbazillus, da er auf keinem in der Bakteriologie gebräuchlichen Nährboden ohne Zusatz der Schwefelverbindungen gedeihen kann.

Es wurden ausprobiert verschiedene Nährböden, wie Peptonwasser, Bouillon, Salatinfus, Gelatine, einfacher (2 %) Agar, Salatinfusagar, Kartoffelscheiben und Kartoffelkeile in Röhrchen mit Wasser und Glyzerin. Auf keinem der genannten Nährböden konnte ich das Wachstum dieses Bazillus erzielen. Erst durch Zusatz von ½—1 ccm des sterilisierten Originalwassers oder einiger Tropfen des sterilisierten, H_2S-haltigen Wassers sowie der in Wasser löslichen Schwefelverbindungen (Gips) wurde das

1) Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. Journ. of the Coll. of science, Imp. Univ. Tokyo, 1897, Vol. X, pt. II.

Gedeihen des Bazillus ermöglicht. Auf Gelatine bei 22° C zeigte dieser Bazillus kein Wachstum trotz des Zusatzes von Originalwasser, H_2S oder Schwefelverbindungen haltigem Wasser. Ebensowenig zeigte dieser Bazillus ein Wachstum auf Nährböden bei einer Temperatur unter 49° C, obgleich Schwefelverbindungen zugesetzt wurden.

Es ist somit diese Temperatur sein Temperaturminimum und der Bazillus ein ausgesprochener thermophilus. Sein Temperaturoptimum liegt zwischen 56°—60° C, und auf dieser Temperatur werden auch die Sporen gebildet.

Ich möchte besonders betonen, dafs die Sporenbildung bei dieser Temperatur ein normaler Lebensvorgang des Bazillus ist, und dafs die Sporen auf demselben Medium auskeimen können, auf welchem sie auch gebildet wurden. Es wurden also die Sporen regelmäfsig gebildet auch ohne Eintreten irgendwelcher ungünstigen Bedingung für ihre vegetative Vermehrung. Es wurden weiter die Versuche bei steigender Temperatur aufgestellt und ermittelt, dafs das Wachstum der normal aussehenden Individuen bis auf 68° C möglich war, dafs aber bei höher steigender Temperatur sehr stark die Involutionsformen auftreten. Auf Kartoffelscheiben sowie Kartoffelkeilen erzeugt dieser Bazillus nach zwanzigstündigem Wachstum einen grauweifsen saftigen Rasen, der die ganze Oberfläche bedeckt. Auf einfachem (2%) Agar sowie Salatinfusagar werden nach 20 stündigem Wachstum bei 56° C grauweifse Kolonien gebildet. Die oberflächlichen Kolonien sind ganzrandig und rund, die tieferliegenden sind dagegen an der Peripherie mehr gezähnt. In Bouillon, sowie Salatinfus zeigt dieser Bazillus ein sehr gutes Wachstum und eine deutliche Trübung der Flüssigkeit nach 20 stündigem Wachstum.

Unser Bazillus ist ein ausgeprägter aerober Bazillus und zeigt in Agarstich sowie unter der hohen Agarschicht ausschliefslich Oberflächenwachstum. Die Versuche mit anaeroben Methoden ergaben negative Resultate auch bei einer Temperatur von 56° C.

Ebenso konnte keine Gärung beobachtet werden, obgleich manche gut vergärbare Nährböden verwendet wurden. In 2% Maltose und Glukose zeigt dieser Bazillus kein Wachstum, obgleich zu diesen Nährböden H_2S zugesetzt wurde, wie das auch Winogradsky[1]) für die Beggiatoaen beobachtet hat.

Dagegen bildete dieser Bazillus Säure, welche die zum Agar zugesetzte Kreidelösung im Umkreise der Kolonien auflöst. Die Menge der gebildeten Säure ist jedenfalls keine beträchtliche, da die freie Säure nicht angehäuft wird. Diese Tatsache hat schon Winogradsky[2]) für die Beggiatoa festgestellt und durch die Annahme zu erklären gesucht, »daſs die Schwefelsäurebildung in den Zellen der Beggiatoa nur so lange fortdauert, als Kohlensäuresalze zur Neutralisation der sich bildenden Säure vorhanden sind.«

Bacillus thermophilus vranjensis bildet kurze Stäbchen oder Ketten aus wenigen Individuen. Bei höherer Temperatur (über dem Optimum) werden lange gewundene Ketten gebildet.

Das einzelne Stäbchen ist 3—4 μ lang und 1,1 μ breit, und besitzt deutlich abgerundete Enden.

Nach Zettnowscher Geiſsel-Methode gefärbt zeigt dieser Bazillus deutliche Geiſseln, die büschelweise an beiden Enden befestigt sind. Dieser Begeiſselung entsprechend besitzt der Bazillus auch eine eigentümliche, spirillenähnliche Bewegungsart.

Individuen aus den jungen Kulturen bewegen sich energisch, und zwar um ihre eigene Längsachse tummelnd, und dann führen sie eine schlängelnde Bewegung mit einem Ende bei anscheinend fixiertem anderen Ende aus.

Je älter die Kulturen, desto mehr büſsen die Bazillen ihr Bewegungsvermögen ein.

Einzelne Bazillenstäbchen besitzen an jedem Pole je ein Polkörnchen, welches dem abgerundeten Rande dicht anliegt. Nicht sämtliche Individuen besitzen solche Polkörnchen, die ich

1) a. a. O., S. 551.
2) a. a. O., S. 555.

für Ernst-Babessche Körnchen halte. Aufser diesen Polkörnchen finden wir im Körper dieses Bazillus zwei oder mehrere Körnchen, welche in der Mitte oder an einem Ende des Stäbchens angenähert liegen. Sie sind säurefest, da sie nicht verschwinden, wenn sie in Karbolfuchsin aufgekocht und mit 5 prozentiger Schwefelsäure behandelt wurden.

Bei der Sporenfärbung werden auch diese Körnchen dunkelrot gefärbt. Da aber die Sporen bekanntlich hellrot gefärbt werden, so läfst sich aus diesem tinktionellen Verhalten der Körnchen auf deren Verwandtschaft zu den Sporen schliefsen, wie das auch Bunge[1]) ausführlich beschrieben hat.

Ich habe mich davon überzeugt, dafs diese Körnchen keine eingelagerten Schwefelkörnchen sind. Zu diesem Zwecke benutzte ich Schwefelkohlenstoff, welchen ich zu den zuerst an das Deckglas etwas angetrockneten Bazillen zusetzte. Nach verschieden langer Einwirkung ($^1/_4$ — $^1/_2$ Stunde und dann am nächsten Tag fortgesetzt) blieben diese Körnchen ganz unverändert.

Das Verhalten dieser Körnchen ist also ganz verschieden von denjenigen der Beggiatoenfäden, für welche Winogradsky[2]) nachgewiesen hat, dafs die darin enthaltenen Körnchen aus Schwefel bestehen und in Schwefelkohlenstoff sehr rasch löslich sind.

Ältere Kulturen zeigen bei höherer Temperatur Involutionsformen, birn- und kugelförmige Gebilde mit hellem Protoplasma, welches mehrere stark lichtbrechende säurefeste Körnchen enthält, wie das auch Preisz[3]) für Milzbrandbazillus angegeben hat. Aufserdem finden sich in solchen Kulturen auch Riesenindividuen.

Bei einer Temperatur von 56°—60° C bildet unser Bazillus eine endständige, ovale Spore, welche den Bazillenkörper auf-

---

1) Über Sporenbildung bei Bakterien. Fortschritt d. Medizin, Bd. XIII, 1895. S. 859 u. 860.

2) a. a. O., S. 521.

3) Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbazillus. Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXV, S. 431.

treibt und dem Stäbchen eine Trommelschlägelform verleiht. Diese Spore ist durch einen hellen Hof vom übrigen Protoplasma abgetrennt; sie ist im ungefärbten Zustande grünlichgelb und stark lichtbrechend.

Die Sporenbildung, wie sie P. Ernst[1]) aus einem metachromatischen Körperchen beschrieben hat, oder wie es Bunge[2]) durch Verschmelzung von mehreren Körnchen zu einer Spore beobachtet hat, oder auch durch einen komplizierten Vorgang der Vorsporenbildung aus chromatischer Substanz, wie das von Preisz beschrieben wurde, habe ich nicht näher untersucht. Ich behalte mir deshalb vor, über diesen Vorgang demnächst ausführlicher zu berichten, beschränke mich aber vorläufig darauf, einiges über das Vorkommen der metachromatischen Körnchen in der jungen sowie der reifen Spore mitzuteilen.

Es wurde schon früher betont, daſs an beiden Polen des Bazillusstäbchens je ein stark lichtbrechendes Polkörnchen vorhanden ist. Diese Polkörnchen färben sich nach M. Neissers Methode (Hyg. Rundsch. 1903 No. 14) tief blau, lassen sich aber auch bei Sporenfärbung gut darstellen. Auſserdem finden wir in der ausgebildeten, im Stäbchenkörper noch enthaltenen Spore zwei Polkörnchen, welche die beiden Pole der Spore einnehmen und sich nach Neissers Methode ebenfalls tief blau färben.

Ich konnte weiter feststellen, daſs sehr oft an den Polen der in dem Bazillusstäbchen noch enthaltenen Spore je zwei, dicht nebeneinander liegende, dunkelblaue Körnchen vorhanden waren.

Ich nehme deshalb an, daſs die beiden, an den Polen der Spore gelegenen Körnchen geteilt wurden.

Die beiden Doppelkörnchen weichen nun auseinander und nehmen schlieſslich eine kreuzweise Stellung in der Spore ein:

---

1) Über Kern- und Sporenbildung in Bakterien. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. V, S. 463.

2) a. a. O., S. 860.

zwei derselben liegen genau an beiden Polen der Spore in deren Längsachse; die beiden anderen dagegen liegen an beiden Enden der Sporenquerachse, senkrecht auf die Sporenlängsachse.

Alle denkbaren Zwischenstellungen der Polkörnchen sind dabei zu beobachten und bieten gute Anhaltspunkte für eine Annahme, dafs dieselben durch Inhaltsverlagerung der Spore orientiert wurden.

Auf diesem Stadium der Trommelschlägelform finden wir also am Pole des Stieles des Bazillenstäbchens ein dunkelblaues Körnchen und an beiden Polen der ausgebildeten Spore je ein Körnchen in ihrer Längsachse sowie die beiden Körnchen am Ende der Sporenquerachse.

Ich möchte noch erwähnen, dafs in der freien Spore ebenfalls zwei Körnchen oder vielmehr zwei Kalotten an ihren Polen vorhanden sind.

Ähnliche Verhältnisse hat schon Babes[1]) bei einem heubazillenähnlichen Stäbchen beschrieben. Er fand auch dafs »am Ende des schwach blau gefärbten Stäbchens dunkelrot oder violett gefärbte Kügelchen, welche die Dicke der Stäbchen nicht übertreten,« vorhanden sind (S. 174).

Babes hat auch ein an einem Pole der freien Spore befindliches Körnchen beschrieben (S. 183) und meint, dafs diese Gebilde keine Degenerationsformen sind, sondern dafs dieselben zum Teilungsprozefs und wahrscheinlich auch zur Sporenbildung in irgendwelcher Beziehung stehen (S. 185). Er hat weiter beobachtet, dafs »bei sporenbildenden Bazillen . . . . die Sporen oft an der Stelle, an welcher gewöhnlich die Kügelchen sitzen,« gebildet werden (S. 186).

P. Ernst[2]) betont dagegen ausdrücklich, »dafs die schwarzen Punkte und Kügelchen oder wenigstens eine Elite derselben zu Sporen werden,« und hat deshalb den Namen sporogene Körner vorgeschlagen.

---

1) Über isoliert färbbare Anteile von Bakterien. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. V, 1889.

2) a. a. O., S. 463.

Er findet auch am Ende des Stäbchens, sowie an einem Pole der ovalen Spore je ein schwarzes Korn (S. 461).

Im Gegensatz zu beiden eben genannten Autoren und meinen Befunden am Bacillus thermophilus vranjensis stehen diejenigen von Preisz, die er beim Studium von Milzbrandbazillen gewonnen hat. So sagt er über diesen Gegenstand folgendes: »Niemals habe ich in Sporenanlage und Vorsporen säurefeste oder metachromatische Körper gefunden« (a. a. O. S. 426).

Ich möchte zum Schlufs noch über die Sporenkeimung berichten und zeigen, dafs die beschriebenen, in der freien Spore befindlichen Polkörnchen in Beziehung zur Sporenkeimung stehen. Die reife Spore besitzt eine ovale Form, sie ist undurchsichtig und stark lichtbrechend. Bei der Keimung dagegen wird die Spore länglich, in der Mitte etwas eingeschnürt (biskuitförmig), und ihr Inhalt wird bedeutend heller. In diesem Stadium werden die beiden Polkörnchen auch im ungefärbten, lebenden Zustande sichtbar, und eines derselben wird bei der Keimung zapfenförmig nach aufsen verlängert. Es scheint somit, dafs den Anstofs zur Auskeimung der Spore ein Polkörnchen gibt. Die weitere Auskeimung besteht darin, dafs der ganze Inhalt der Spore in ein Stäbchen übergeht und dieser sofort die Teilung eingeht, wenn die nötige Länge erreicht wurde.

An einem Pole des jungen Keimlings bleibt eine Zeitlang die Sporenhaut hängen, und zwar so, dafs in einer gröfseren Hälfte der Sporenhaut das Keimlingsende noch darin steckt, während die andere kleinere deckelförmig abgehoben und seitwärts am Keimling verschoben wird.

Sehr oft habe ich aber beobachtet, dafs die Sporenhaut in zwei anscheinend gleiche Hälften bei der Keimung gesprengt wird, und dafs diese an der Berührungsstelle von zwei Stäbchen zu liegen kommt; und zwar nur an einer Seite der Stäbchen. Ich konnte aber nicht ganz einwandfrei feststellen, ob die betreffende Spore tatsächlich an beiden Polen gekeimt war, oder ob der junge Keimling an dem noch in der Sporenhaut steckenden Ende weitergewachsen war und die andere Hälfte der Sporenhaut zur Seite verschoben hat.

In diesem Stadium, und zwar nach 1 $^{1}/_{2}$—2 stündigem Wachstum bei 56° C finden wir in den Kulturen massenhaft leere Sporenhäute, welche U-Form besitzen.

An diesen leeren Sporenhäuten konnte ich eine Duplizität der Sporenhaut nicht nachweisen.

Zum Schlufs erlaube ich mir, dem Herrn Prof. Dr. M. Ficker meinen herzlichsten Dank auszusprechen für sein stetes Interesse und freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Wasserkontrolle in Budapest.[1])

Von

Univ.-Dozent Dr. **Bernhard Vas,**
Leiter des Instituts.

(Aus dem Bakteriologischen Institut der Hauptstadt Budapest.)

Der Bau des Budapester definitiven Wasserwerkes ist im Jahre 1904 zu einem vorläufigen Abschlusse gelangt. Es dürfte sich demnach verlohnen, die Ergebnisse der fortlaufenden bakteriologischen Wasseruntersuchungen, welche in dem Zeitraume 1897—1908 ausgeführt wurden, einer Betrachtung zu unterziehen.

Zuvor aber ist es vielleicht am Platze, einige historische Daten über die Wasserversorgung der Hauptstadt, sowie eine ganz kurze Schilderung der Wasserversorgungsanlagen nebst Bemerkungen über die bei den Untersuchungen befolgte Methodik vorauszuschicken.

In den ältesten Zeiten wurde der Wasserbedarf der Hauptstadt teils durch Brunnen, teils direkt durch das Donauwasser gedeckt. Die grofse Choleraepidemie, welche im Jahre 1866 in Budapest wütete, gab die erste Anregung zum Bau eines Wasserwerkes, welches im Jahre 1868 durch den berühmten englischen Ingenieur Lindley auf dem Platze, wo gegenwärtig das Parlamentsgebäude steht, erbaut wurde und aus drei Brunnen bestand.

1) Vortrag, gehalten auf dem XVI. Internationalen medizinischen Kongrefs in Budapest.

Nachdem diese sich schon in kurzer Zeit als unzulänglich erwiesen, tauchte bald die Idee des ständigen Wasserwerkes auf, welche jedoch infolge der Mannigfaltigkeit der empfohlenen Pläne und der Uneinigkeit der kompetenten Kreise nicht zur Ausführung gelangen konnte.

Um den momentanen Bedürfnissen abzuhelfen, wurde einstweilen das Lindleysche provisorische Wasserwerk nach den Plänen des damaligen Wasserwerkdirektors Wein durch die Anlage einer dem Donaustrome parallel verlaufenden horizontalen Sammelröhre in einer Länge von 1067 m erweitert und im Jahre 1878 in Betrieb gesetzt. Zur selben Zeit wurde auch mit dem Bau des Buda-Ujlaker Werkes begonnen, welchem die Aufgabe zufiel, den rechtsseitigen Stadtteil mit Wasser zu versorgen. Dasselbe konnte im Jahre 1881 in Betrieb gesetzt werden und bestand gleich dem Pester Werke aus einer horizontalen Sammelröhre, deren Länge 200 m betrug.

Das ständige Wasserwerk wurde seitens des Wasserwerkdirektors Wein in Káposztás Megyer geplant; er hoffte durch eine horizontale Sammelröhre in einer Länge von 4000 m das nötige Quantum für die rasch aufblühende Hauptstadt zu gewinnen. Dieser Plan fand jedoch keinen Anklang, er wurde heftig bekämpft besonders vom hauptstädtischen Baurate, welcher eigentümlicherweise die Errichtung von künstlichen Filtern befürwortete, während andere mit ganz abenteuerlichen Plänen zur Gewinnung des nötigen Trinkwassers hervortraten, unter diesen befand sich u. a. auch ein Projekt zur Ableitung der Quellen aus den Karpaten. Der zur Begutachtung der verschiedenen Pläne hierher berufene technische Rat Salbach aus Dresden hielt den vom Wasserwerksdirektor Wein bezeichneten Platz zur Wassergewinnung geeignet, nur sprach er sich im Gegensatze zu Wein für die Aufstellung senkrechter Brunnen aus, von welchen drei zur Probe auf dem Platze der heutigen Káposztás Megyerer Anlage auch alsbald versenkt wurden.

Zur Deckung des fortwährend steigenden Wasserverbrauches wurden im Jahre 1886 provisorisch auch künstliche Filter gebaut.

Eine gröſsere Typhusepidemie, welche Ende des Jahres 1886 auftrat, beschleunigte die Lösung der Frage des definitiven Wasserwerkes, welche im Sinne des Salbachschen Planes alsbald entschieden und mit dessen Ausführung Wasserwerksdirektor-Stellvertreter Kajlinger betraut wurde. Derselbe unterwarf die Pläne Salbachs einer gründlichen Umänderung, welche auch seitens der hierher berufenen ausländischen sowie der einheimischen Sachverständigen in vollem Maſse gewürdigt und approbiert wurde.

Der Bau des Wasserwerkes schritt von nun an rasch vorwärts. Im Jahre 1893 wurde der erste Teil der Káposztás Megyerer Anlage, 1897 die erste Überhubstation beendet. Nachdem diese in Betrieb gesetzt wurde, konnten 1899 die künstlichen Filter endgültig aufgelassen werden. Im Jahre 1901 tritt die zweite Überhubstation in Funktion, und mit dem im Jahre 1904 erfolgten Anschlusse des dritten — Dunakeszer — Teiles der Anlage fand das Werk vorläufig seinen Abschluſs.

Auch die Ausführung des Wasserwerkes in Ujlak wurde unterdessen dem gegenwärtigen Wasserwerksdirektor übertragen, welcher vor allem den weiteren Ausbau der miſslungenen horizontalen Sammelröhre einstellte und durch Versenken von drei senkrechten Brunnen das Wasserwerk erweiterte. Nach diesen knappen historischen Angaben, welche ich wie auch die folgenden der Liebenswürdigkeit des Oberingenieurs Paulovits verdanke, seien hier noch einige Angaben über den Betrieb und die Produktionsfähigkeit der einzelnen Wasserversorgungsanlagen angeführt. Dieselben bestehen, abgesehen von kleineren Wasserwerken, im wesentlichen aus den drei Anlagen in Káposztás Megyer, in Buda-Ujlak und in der Markó utcza (Lindleysche Sammelröhre, Weinbrunnen).

Das Wasserwerk in Káposztás Megyer liegt im Grenzgebiete der Ortschaften Ujpest, Rákospalota, Szigetmonostor und Dunakesz. Dieser Terrainabschnitt besitzt eine sehr günstige Beschaffenheit als Grundwasserträger, da er aus Fluſsgeröllen, vermischt mit gröberen und feineren Sanden besteht und genügend feinkörnig ist, um eine ausreichende

natürliche Filtration des Wassers bewirken zu können. Die Kiesschichten sind gröfstenteils rein, 5 bis 10 m hoch und nach oben durch eine Decke von Ton, auf welchen eine breite Schicht von Humus folgt, gegen Infiltrationen aus den Ansiedlungen geschützt.

Die Anlage besitzt gegenwärtig 73 Brunnen, welche sich teils am linken Ufer, teils am rechten resp. auf den Inseln von Palota und Szent Endre befinden, und zwar ist die Verteilung der Brunnen die folgende:

am linken Ufer in Ujpest	4
gegenüber auf der Insel Palota	7
am linken Ufer in Rákospalota	7
gegenüber auf der Insel Szt. Endre	10
am linken Ufer in Dunakesz	23
gegenüber auf der Insel Szt. Endre	22

Das Wasser der Inselbrunnen wird mittels Siphonleitung automatisch durch zwei unter dem Strome gebaute Tunnels auf die linke Seite geleitet, vereinigt sich da mit dem Wasser der linksuferigen Brunnen und fliefst durch eine Zwillingsröhre nach der Hauptanlage, von wo es durch das Hauptrohr in die Stadt gepumpt wird.

Der Umstand, dafs beide Uferstrecken zur Wasserlieferung herangezogen sind, gewährt den Vorzug, dafs die Gesamtanlagen auf einem relativ kleinen Raum ausgebaut werden konnten. Das von dieser Anlage gelieferte Wasser versieht die ganze Pester Seite (mit Ausnahme eines kleinen Teiles des Bezirkes Lipótváros) mit Wasser, aufserdem jenen Teil von Buda, welcher sich vom Gellérthegy gegen Kelenföld erstreckt. Ist der Wasserverbrauch ein geringer, so fliefst das überflüssige Wasser teils in das Reservoir von Köbánya, teils durch eine an der Ferencz József Brücke angebrachte Leitung nach Buda in das Bassin auf dem Gellérthegy. Steigt der Wasserverbrauch in dem Mafse, dafs das in die Stadt gepumpte Wasser ungenügend wird, so wird der Mehrverbrauch durch diese Reservoire vollkommen gedeckt.

Die Hauptanlage in Káposztás Megyer ist mit neun Dampfmaschinen versehen, deren effektive Arbeitskraft 3200 Pferde-

kräften entspricht; hierzu kommt noch die Arbeitsleistung der 1. und 2. Überhubstation mit 500 Pferdekräften.

Das Wasserwerk genügt gegenwärtig selbst den gröfsten Anforderungen. Die durchschnittliche Leistung betrug im Jahre 1908 täglich 133 000 cbm, der gröfste Gebrauch war am 30. Juli 169 678 cbm und der geringste am 20. April 99 773 cbm.

Die Beantwortung der Frage, für wie lange Zeit die Versorgung der Stadt durch diese Anlage sichergestellt sei, ist eine sehr schwere. Der Verbrauch hat besonders in den letzten Jahren in einer Weise zugenommen, welcher durch die rapide Entwicklung der Stadt allein nicht erklärt werden kann. Der Wasserwerksdirektor gibt als Ursache die beispiellose Verschwendung an, welcher nur der obligatorische Gebrauch von Wasseruhren eine Schranke setzen könnte.

Es bleibt aber immerhin fraglich, ob der Konsum tatsächlich den vom Wasserwerke gelieferten Mengen entspricht und ob nicht etwa auf nicht immer eruierbare Weise gröfsere Wassermengen ungebraucht verloren gehen.

Tatsächlich sind aber die Einheitsziffern für den Bedarf pro Kopf und Tag, wie dies auch Professor Lueger[1]), einer der zur Begutachtung der Wasserwerke berufenen Sachverständigen betont, in einer geradezu beängstigenden Weise in die Höhe gegangen. Der Wasserwerksdirektor glaubte, bei der gegenwärtig herrschenden unbeschränkten Freiheit im Wasserverbrauch das denkbare Maximum auf 250 Liter feststellen zu sollen, doch betrug dasselbe bereits im August 1898 mehr, und zwar nach den Berechnungen 264,2 Liter pro Kopf und Tag, so dafs nach Lueger im Jahre 1917, zu welcher Zeit nach der gleichmäfsigen prozentualen Zunahme die Gesamteinwohnerzahl 1 156 976 betragen dürfte, von welchen eine Million auf den linksuferigen Stadtteil, 157 976 Einwohner hingegen auf Buda entfallen werden, der Verbrauch, sehr mäfsig gerechnet, im Maximum pro Kopf und Tag 300 Liter erreichen dürfte. Angenommen, dafs durch die Was-

1) Szakértöi vélemények Budapest vizmüveiröl 1900. Pesti könyvnyomda társaság.

sermesser ein geregelter Verbrauch zustande käme, wären im Jahre 1917 immer noch 200000 Liter in 24 Stunden zu beschaffen. Das gegenwärtige Wasserwerk vermag 170000 cbm zu liefern, durch eine Erweiterung könnte die Produktion zwar auf 200000 cbm erhöht werden, doch wäre dies nach Ansicht der Sachverständigen sozusagen die äufserste Grenze der Produktionsfähigkeit des Wasserwerkes in Káposztás Megyer.

Jedenfalls ist es angezeigt, schon jetzt über die Möglichkeit der Erschliefsung von neuen Quellen, insbesondere für den Bedarf des linksuferigen Stadtteiles, umfassende Studien zu machen, wenn auch deren Notwendigkeit durch die tadellose und reichliche Produktion des gegewärtigen Wasserwerkes nicht allzu nahe liegt. Bei den neuen Projekten wird man gewifs auch die Ratschläge Prof. Luegers vor Augen halten müssen, dafs nämlich bei den künftig notwendig werdenden Erweiterungen die Neuanlagen von den bisherigen unbedingt getrennt errichtet werden sollen, da je weiter man in der Dezentralisation geht, um so weniger Gefahr läuft, dafs der Betrieb durch einen Unglücksfall ganz unterbrochen oder in grofser Ausdehnung gestört werden kann.

Im allgemeinen bleibt es aber fraglich, ob es nach vielen Jahren überhaupt noch möglich sein wird, den Gebrauch mit Grundwasser zu decken und ob man nicht wieder ob recht oder übel zu den künstlichen Filtern wird zurückgreifen müssen, deren Entfernung im Jahre 1899 von der ganzen Bevölkerung mit grofser Genugtuung aufgenommen wurde, da man sie — und wahrscheinlich nicht mit Unrecht — für die Verbreitung von Infektionskrankheiten, besonders von Typhus, verantwortlich zu machen glaubte.

Das Wasserwerk in der Markó utcza, der sogenannte Wein brunnen, welcher auf dem Prinzipe der horizontalen Sammelröhre beruht, versieht einen grofsen Teil des Bezirkes Lipótváros mit Wasser. Die Produktion betrug im Jahre 1908 im Durchschnitt täglich 20000 cbm, das Maximum war am 14. Juli 22878 cbm, das Minimum am 20. April 18014 cbm.

Ein Teil der Sachverständigen ist mit Rücksicht darauf, dafs sich diese Anlage auf einem jetzt bereits dicht bebauten Terrain befindet und die Mächtigkeit des Bodens über dem Flufskiese an vielen Orten eine sehr geringe ist, für das gänzliche Auflassen dieses Wasserwerkes, während der Wasserwerksdirektor auf Grund der fortlaufenden günstigen chemischen und bakteriologischen Befunde und des Umstandes, dafs durch die ausgedehnte Kanalisation eine Verunreinigung des Bodens auch in der Zukunft hintangehalten werden dürfte, auf der weiteren Erhaltung der Anlage besteht.

Die Versorgung des rechtsufrigen Stadtteils geschieht durch das Wasserwerk in Buda-Ujlak, es besteht aus einer 200 Meter langen Sammelröhre und aus vier senkrechten Brunnen. Es versieht den gröfsten Teil von Buda (Ó-Buda, Ujlak, Viziváros, Tabán und Krisztinaváros). Die Produktion betrug in 1908 durchschnittlich pro Tag 31 500 cbm, das Maximum am 30. Juli war 44 563 cbm, das Minimum am 25. Dezember 21 666 cbm.

Das Wasserwerk in Buda-Ujlak hat sich schon bisher als unzulänglich erwiesen, so dafs dessen Erweiterung binnen kurzem in Angriff genommen werden dürfte. Es haftet dieser Anlage derselbe Fehler an wie derjenigen in der Markó utcza; sie befindet sich nämlich zum gröfsten Teil auf einem stark bebauten Gebiete.

Die Wasserversorgungsanlagen der Hauptstadt unterstehen seit dem Jahre 1891 einer ständigen hygienischen Kontrolle, welche durch verschiedene Stellen (chemische Untersuchungsanstalt, bakteriologisches Institut, Wasserwerksdirektion) nach einheitlichem Plane ausgeführt wird.

Die bakteriologische Wasseruntersuchung geschieht seitens des hauptstädtischen bakteriologischen Instituts, welches im Jahre 1899 nach den Plänen des Universitätsprofessors Pertik errichtet wurde.

Die Wasserproben wurden anfangs von Angestellten der Wasserwerksdirektion geschöpft und dem Institut eingeliefert.

Da diese Art der Wasserentnahme nicht befriedigte, so ergab sich bald die Notwendigkeit einer Regelung derselben. Dieselbe erfolgte auch im Jahre 1900 mittels Magistratserlasses Nr. 14869, welcher vor allem die bis dahin verordneten täglichen Wasseruntersuchungen einstellte, nachdem deren Notwendigkeit infolge der Demolierung der künstlichen Sandfilter nicht mehr bestand, hingegen die Untersuchung der verschiedenen Brunnen sowie der Hausleitungen mittels Proben aus den Zapfhähnen in gröſserer Ausdehnung verordnete. Die Wasserproben wurden von nun an an Ort und Stelle von fachmännisch geschulten Leuten entnommen und auf kürzestem Wege, im Sommer in Eis verpackt, dem Institute zur weiteren Untersuchung eingeliefert. Die Erfahrungen mit dieser Methode jedoch scheinen auch nicht sehr günstige gewesen zu sein, da im Jahre 1904 ein neuer Magistratserlaſs Nr. 3576 erschien, welcher eine definitive Regelung des bei der Entnahme der Wasserproben zu befolgenden Vorgehens brachte.

Nach demselben sind sämtliche Brunnen, Sammel- und Hauptröhren sowie das periphere Wasser (Hausleitungen) und das unfiltrierte Donauwasser einer ständigen chemischen und bakteriologischen Untersuchung unterworfen. Die Entnahme der Wasserproben geschieht nach einem für einen Monat voraus bestimmten Programme und umfaſst monatlich 250 Proben zentralen und 500 Proben peripheren Ursprunges; letztere sollen sich sukzessive auf sämtliche Bezirke der Hauptstadt erstrecken.

Laut der Verordnung beschränkt sich die bakteriologische Wasseruntersuchung bloſs auf die Bestimmung der Keimzahl, während der Nachweis der einzelnen Bakterienarten, da dies mit Rücksicht auf die groſse Zahl der Einzeluntersuchungen kaum ausführbar wäre, nur in bestimmten, im Erlaſs spezifizierten Fällen gefordert wird, so u. a. wenn in den Wasserwerken gröſsere Veränderungen oder durch Elementarereignisse hervorgerufene Störungen vorkommen, bei Epidemien oder Auftreten von Krankheitsfällen, welche mit dem Trinkwasser in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden können, besonders bei Typhus- und Choleraerkrankungen.

Die Wasserproben werden im Institut von dem wissenschaftlichen Personal sofort verarbeitet und die Untersuchungsprotokolle in vier Exemplaren: dem Oberphysikat, der Wasserwerksdirektion, dem Nahrungsmittelinstitut und der hauptstädtischen Baudirektion eingesendet.

Wenn auch über den Wert und die Wichtigkeit von bakteriologischen Wasseruntersuchungen selbst unter den Hygienikern keine vollkommene Übereinstimmung herrscht, und dieselben sogar von mancher Seite für überflüssig gehalten werden, so möchten wir diesbezüglich doch auf den Standpunkt Schattenfrohs[1]) hinweisen, der in einem Vortrage auf das eindringlichste betont, »dafs der Nutzen und die Notwendigkeit der hygienischen Untersuchungspraxis nirgends so klar in Erscheinung treten wie bei der fortlaufenden Kontrolle der Wasserversorgungsanlagen; denn nur selten dürfte ein Wasserwerk gegenüber Elementarereignissen und abnormen Betriebsverhältnissen vollkommen geschützt sein, in welchen Fällen gerade die regelmäfsige Kontrolle es ermöglicht, den Schaden zu konstatieren und denselben zu beheben«. Diese Kontrolle erstreckt sich, wie bekannt, auf die Untersuchung der chemischen und bakteriologischen Eigenschaften, zu ersteren gehören seit kürzerer Zeit auch die Messungen der elektrischen Leitungsfähigkeit, aufserdem werden gewöhnlich seitens der Wasserdirektionen Aufzeichnungen über die physikalischen Eigenschaften (Farbe, Temperatur, Klarheit) des Wassers sowie Messungen über den Wasserstand, die Ergiebigkeit der Brunnen, über den Verbrauch etc. ausgeführt. »Diese regelmäfsigen Untersuchungen,« meint Schattenfroh, »sind den Einzelbeobachtungen auch aus dem Grunde überlegen, weil sie die Anwendung einer feineren, für den besonderen Fall geeigneteren Methodik ermöglichen. Während bei Einzeluntersuchungen einerseits nur ungern von den überlieferten, teilweise konventionellen Methoden Umgang genommen wird,

1) Die Grundlagen der hygienischen Wasserbegutachtung. Bericht des XIV. internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie. Berlin 1908.

anderseits häufig aus den Ergebnissen keine bindenden Schlüsse gezogen werden können, ist bei der Kontrolle, deren wesentlicher Wert in dem Vergleiche und in der Konstatierung einer Änderung, einer Verschiebung in den Befunden gelegen ist, die Möglichkeit gegeben, fast jedes beliebige Verfahren, sofern es sich im konkreten Falle nur genügend empfindlich erweist, mit Erfolg zu verwerten, ebenso wie die Beobachtung der Zahlenkurven selbst bei an sich unwesentlichen absoluten Ausschlägen wichtige, ja entscheidende Anhaltspunkte liefern kann.«

Die Richtigkeit dieser Anschauung Schattenfrohs findet ihre sicherste Bestätigung in den günstigen Erfahrungen, welche auf Grund derlei Untersuchungen gewonnen wurden und welche in konkreten Fällen die Möglichkeit bieten, Veränderungen der Eigenschaften des Wassers oder des Betriebes rechtzeitig zu erkennen und durch geeignete Mafsnahmen rasche Abhilfe zu schaffen.

Unter den Methoden der hygienischen Kontrolle ist jedenfalls die bakteriologische eine der wichtigsten. Sie übertrifft sogar nach der Ansicht mafsgebender Forscher an Wichtigkeit die chemische Analyse, welche ebenfalls wertvolle Anhaltspunkte zu liefern vermag. Bei fortlaufenden Untersuchungen besteht jedoch bekanntlich die Aufgabe der bakteriologischen Wasseruntersuchung weniger in dem direkten Nachweis von Krankheitserregern oder in der genauen Bestimmung der einzelnen Bakterienarten — derlei Untersuchungen werden nur für besondere Fälle gefordert — als vielmehr in der Bestimmung der Bakterienzahl, welche hauptsächlich in Form von Vergleichszahlen als direkter Mafsstab für die Beurteilung eines Trinkwassers gelten kann,

Was die bei unsern Untersuchungen befolgte Methodik betrifft, so hat sich dieselbe im Laufe der Jahre auf Grund der an zahlreichen Untersuchungen gewonnenen Erfahrungen zu einem einfachen Verfahren entwickelt, welches seinem Zwecke, eine genügende Aufklärung über die bakteriologischen Eigenschaften des Wassers zu geben, vollkommen zu entsprechen scheint.

Bei unserem Verfahren werden von den in kleinen sterilen, mit eingeschliffenen Stopfen und Etiketten versehenen Fläschchen mittels steriler Pipetten — sogenannter Wasserpipetten — 1 ccm oder bei voraussichtlich gröfserer Keimzahl genau abgemessene Bruchteile eines Kubikzentimeters mit 10 ccm verflüssigten Nährmittels vermischt und in einer Petrischen Schale auf ebener Unterlage erstarren gelassen. Als Nährboden benutzten wir ausschliefslich die Fleischwasserpeptongelatine, da sich uns dieselbe unter allen empfohlenen Nährböden am geeignetsten erwiesen hat.

Ich mufs es mir versagen, an dieser Stelle die Vor- und Nachteile der verschiedenen Nährböden zu erörtern. Es ist dies bereits des öfteren von berufener Seite geschehen, doch haben die verschiedenen Nachprüfungen, so u. a. auch die unter Leitung von Heim seitens Schütz[1]) ausgeführten, zu keinem einheitlichen Resultat geführt.

Wenn auch zweifellos gewisse Wasserkeime auf der Gelatine nicht zur Entwickelung kommen, so kommt dieser Umstand bei unseren Untersuchungen insofern nicht in Betracht, als es uns doch hauptsächlich um relative und nicht um absolute Werte zu tun ist. Da der durch die Mangelhaftigkeit des Nährbodens bedingte Ausfall einer gewissen Keimzahl sich immer in denselben Grenzen bewegt, so bleiben die gewonnenen Resultate gut miteinander vergleichbar und erlauben daher eine richtige Beurteilung des Wassers.

Ein gewisser Übelstand bei Gebrauch der Gelatine, welcher durch die Anwesenheit verflüssigender Bakterien hervorgerufen wird, kann jetzt durch die Abstiftung mittels Höllensteines leicht behoben werden.

Die Züchtung, welche am besten bei einer Temperatur von 20° C geschieht, umfafst gewöhnlich 8 Tage.

Nach dieser Zeit erfolgt die Zählung der Keime. Eine Betrachtung der Platten — schon mit Rücksicht auf etwa vorhandene verflüssigende Keime — ist natürlich auch bereits in den ersten

1) Heim, Lehrbuch der Bakteriologie. Stuttgart 1906.

Tagen notwendig. Der Zeitraum von acht Tagen hat sich uns zur richtigen Beurteilung des Bakteriengehaltes für vollkommen genügend erwiesen. Von einer weiteren Ausbreitung der Züchtungszeit haben wir keinen praktischen Nutzen gesehen, da nach dieser Zeit neue Kolonien nur sehr spärlich zur Entwicklung kommen. Die lange Beobachtungszeit bedeutet zwar einen gewissen Nachteil des Verfahrens, welcher insbesondere bei massenhaften Untersuchungen, wie es die Kontrolle des Trinkwassers einer Groſsstadt erfordert, lebhaft empfunden wird, doch scheint vorläufig keine Aussicht auf Abhilfe, da die zu wiederholten Malen und auch jüngst wieder empfohlenen Modifikationen eigentlich keine Verbesserung bedeuten und auch wenig Anspruch auf Verläſslichkeit besitzen.

So hat gegen das von Abba[1]) empfohlene Verfahren, welches bei vorzeitiger Unterbrechung der Züchtung aus der Benutzung von Verhältniszahlen besteht, Walbaum[2]) vor allem theoretische Bedenken angeführt, denn zur Richtigkeit dieses Verfahrens wäre nach ihm die Voraussetzung nötig, daſs sich in jedem Wasser dieselben Bakterienarten in demselben Verhältnisse finden, was doch gewöhnlich nicht der Fall sein dürfte; auch würde Abbas Formel sofort umgestoſsen werden, wenn es sich um das Hineingelangen von sonst nicht im Wasser gefundenen Bakterienarten handelte. Walbaum hat übrigens auch Nachprüfungen angestellt, ohne die Ergebnisse Abbas bestätigen zu können. So fand sich öfters an zwei aufeinander folgenden Tagen dieselbe Keimzahl vor; nach dem achten Tage konnte eine Zunahme der Keime nur selten beobachtet werden, während doch nach Abba die Züchtung der Kolonien bis zum 15. Tage fortgesetzt werden müſste. Da die Zunahme der Keime durchaus regellos ist, erscheint auch die Aufstellung bestimmter Wachstumsformeln, wie solche von Abba verfaſst wurden, ganz und gar unmöglich.

1) Über die Notwendigkeit, die Technik der bakt. Wasseruntersu. etc. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 33.

2) Über die Methodik der bakt. Wasseruntersuchung. Zentralbl. f. Bakt. 30, 1901.

Die Zählung der Kolonien geschah bei unseren Untersuchungen, wenn die Keimzahl eine geringe war, unter Benutzung einer Lupe, bei Anwesenheit von reichen Ansiedelungen hingegen mikroskopisch.

Die erstere Methode genügte vollkommen für unsere Zwecke, da es sich einerseits gewöhnlich nur um eine geringere Keimzahl handelte, anderseits, da das Wasser zur Aussaat nicht verdünnt werden mufste und demnach Vollaussaaten zur Verfügung standen, das Endresultat durch einen Fehler von einigen Kolonien nicht beeinträchtigt werden konnte.

Erwies sich die mikroskopische Zählung für nötig, so wurde sie gewöhnlich nach einzelnen Gesichtsfeldern ausgeführt.

Die Flora des Budapester Trinkwassers bildete schon in früheren Jahren den Gegenstand von Untersuchungen, welche 1894 und 1896 von den Dozenten Preisich[1]) und Beck[2]) im hauptstädtischen Institut ausgeführt und auch publiziert wurden. Auch gegenwärtig unterliegt der qualitative Bakteriengehalt des Wassers im Institut einer ständigen wissenschaftlichen Beobachtung. Beck konnte aus dem Wasser der Hauptstadt 27 Arten isolieren, die Zahl wurde von Preisich durch weitere 25 Arten ergänzt. Nach diesen Untersuchungen bestand die Flora des Wassers aus folgenden Bakterienarten:

1. Bacillus aquatilis
2. » albus
3. » liquefaciens
4. » subtilis
5. » fluorescens liquefaciens
6. » » putridus
7. » liquidus
8. » gasogenes
9. » ramosus
10. » luteus
11. » violaceus
12. » janthinus
13. » bruneus
14. » flavus
15. Bacillus ruber
16. » rosaceus mycoides
17. » aurantiacus
18. » coeruleus
19. Micrococcus versicolor
20. » sulfureus
21. Sarcina lutea
22. Diplococcus luteus
23. Micrococcus carneus
24. » cinnabarnus
25 Podiacoccus albus
26. Micrococcus aurantiacus
27. Rostbrauner Bazillus[3]).

1) Fővárosunk ivóvizének megitélése bakt. szempontból. Magy. orv. arch. V. évf. 2 f. 1896.

2) Bakt. vízvizsgálatok. Orvosi Hetilap 1894. 8—11 sz.

3) Die unter 1—27 aufgezählten Stämme wurden von Dr. S. Beck gezüchtet.

28. **Bacillus stoliniferus**
29. » **arborescens**
30. » **radiatus**
31. » **Ochraceus**
32. » **implexus**
33. » **gracilis**
34. » **indigoferus**
35. » **baeroliensis indicus**
36. » **carneus**
37. » **hydrophilus fuscus**
38. **Bact. luteum**
39. **Sarcina candida**
40. » **alba**
41. **Sarcina aurantiaca**
42. » **rosea**
43. **Micrococcus aerogenes**
44. » **gen. nov.**
45. » **fulvus**
46. » **cremoides**
47. » **prodigiosus**
48. » **galbanatus**

49. **Dem Typhusbaz. ähnlicher Baz.**
50. **Gelatine rosig verflüssigender Baz.**
51. **Grüner Bazillus**
52. **Blaugrüner Kokkobaz.**[1])

Darunter befinden sich einige, welche von den beiden Autoren zuerst isoliert und beschrieben wurden. Pathogene Keime (Coli, Typhus, Cholera) konnten trotz eifriger Untersuchungen nicht ein einziges Mal im Trinkwasser nachgewiesen werden.

Das Material, welches mir seitens des bakteriologischen Instituts zur Begutachtung der bakteriologischen Eigenschaften des hauptstädtischen Trinkwassers zur Verfügung stand, umfafst 111055 Einzeluntersuchungen und verteilt sich auf die einzelnen Beobachtungsjahre folgendermafsen:

1891 . . .	71	1900 . . .	10253
1892 . . .	150	1901 . . .	8638
1893 . . .	1136	1902 . . .	11151
1894 . . .	918	1903 . . .	9755
1895 . . .	990	1904 . . .	9559
1896 . . .	2152	1905 . . .	9430
1897 . . .	5987	1906 . . .	9626
1898 . . .	6855	1907 . . .	8122
1899 . . .	8486	1908 . . .	7772

Zu einem Vergleiche können jedoch blofs die Ergebnisse seit dem Jahre 1897 benutzt werden, da bis dahin die Wasseruntersuchung nicht genügend geregelt war und die Untersuchungen nicht in entsprechendem Mafse vorgenommen wurden. Die zum Vergleiche benutzbaren Daten umfassen daher einen Zeitraum

1) **28—52 von Doz. Dr. Preisich gezüchtet. 49—51 zuerst von ihm beschrieben.**

von 12 Jahren (1897—1908) und müssen, um zu einem richtigen Schlusse gelangen zu können, nach den einzelnen Wasserwerken gesondert betrachtet werden.

Es werden demnach am rechten Ufer das Buda-Ujlaker Wasserwerk, am linken Ufer das Káposztás Megyerer Werk, und zwar getrennt in drei Teilen (Unter-, Ober-Megyer und Dunakesz), und der Weinbrunnen, aufserdem das periphere Wasser beider Stadtteile einer separaten Besprechung unterzogen.

Die grofse Menge der Einzeluntersuchungen erschwert natürlich aufserordentlich die Beurteilung und Verwertung derselben. Ein leichterer Überblick konnte nur so gewonnen werden, dafs zum Vergleiche die Mittelzahlen benutzt werden, welche aus den Gesamtuntersuchungen der einzelnen Monate eines jeden Jahres ausgerechnet wurden und welche die in einem Kubikzentimeter enthaltene Bakterienzahl angeben.

I. Das Wasserwerk in Buda Ujlak (Tabelle I).

Die monatlichen Mittelwerte der Bakterienzahlen bewegen sich bis Ende 1900 innerhalb weiter Grenzen (36—1174). Seit dieser Zeit ist zwar eine Besserung bemerkbar, doch kommen Steigerungen des Keimgehaltes besonders in der Periode 1901—1904 noch ziemlich häufig vor. Seit dem Jahre 1905 sind die monatlichen Mittelwerte zumeist unter 100, nur ausnahmsweise höher, die Steigerungen des Bakteriengehaltes wiederholen sich auch seither von Zeit zu Zeit, doch sind diese Eruptionen nur geringen Grades und im allgemeinen von kurzer Dauer. Die Unbeständigkeit der bakteriologischen sowie chemischen (zeitweilig geringe Mengen Ammoniak) Eigenschaften des Buda-Ujlaker Wassers macht eine fortlaufende strenge Kontrolle dieses Wasserwerkes besonders notwendig, um so mehr, als infolge der zufriedenstellenden Ergiebigkeit des Wasserwerkes die Erweiterung auf demselben Terrain geplant ist. Es ist zu hoffen, dafs, trotzdem das Wassergebiet bereits stark bebaut ist, durch geeigneten Bodenschutz und ausgiebige Kanalisation eine Verunreinigung des Bodens mit Erfolg vermieden werden dürfte.

2. Das Wasserwerk in Káposztás Megyer (Tabellen II, III, IV).

Die bakteriologischen Untersuchungen der unteren und oberen Anlagen in Megyer weisen in den Beobachtungsjahren von 1897—1900 ziemlich grofse Schwankungen des Keimgehaltes auf. Die Mittelwerte sind zumeist über 100 und erreichen sogar im Jahre 1900 im Monat Februar eine Keimzahl von 1233. Von dieser Zeit an ist ein Sinken des Bakteriengehaltes bemerkbar. Die Mittelwerte werden im allgemeinen niedriger, befinden sich gewöhnlich unter 60, zumeist zwischen 10—30, und steigen nur ganz selten, wie z. B. im Jahre 1902, über 100. Auch das Wasser der dritten sogenannten Dunakeszer Anlage des Wasserwerkes weist im allgemeinen sehr niedrige Mittelwerte auf, welche sich mit Ausnahme des Jahres 1904, um welche Zeit die Einschaltung dieses Abschnittes erfolgte, zwischen 10—60 Bakterien in 1 ccm bewegen.

Die Ursache der vorher erwähnten Steigerung der Keimzahl in den Monaten Mai und Juni des Jahres 1902 konnte mit Bestimmtheit nicht eruiert werden. Es bestand hierüber zwischen dem damaligen Leiter des bakteriologischen Instituts und dem Wasserwerksdirektor eine Meinungsverschiedenheit, welche trotz eifriger Nachforschungen und leidenschaftlicher Diskussionen nicht geklärt werden konnte.

Aufser den gewöhnlichen von Preisich und Beck beschriebenen Bakterienarten wurden seither keine neuen Arten isoliert. Blofs im unfiltrierten Donauwasser fand Ajtay sechs bisher unbekannte Arten, und zwar: Bacillus budapestinensis (α), bacillus capsulatus roseus, bacillus viridis septicus, bacillus chamaeleon, bacillus violaceus diffusus und bacillus dichromogenes. Einige Male konnten Trübungen einiger Brunnen, verursacht durch Crenothrix, konstatiert werden; dieser Übelstand wurde jedoch immer sehr schnell behoben und hatte keine weiteren Folgen.

Der chemische Befund des Káposztás Megyerer Wassers spricht auch für dessen Tadellosigkeit, indem es nie Ammoniak

und nur selten Spuren von salpetriger Säure enthält. Auch der Chlor- und Salpetersäuregehalt ist ein sehr niedriger (6 resp. 2—3 mg im Liter). Dabei besitzt das Wasser auch vorzügliche physikalische Eigenschaften. Es ist kristallrein, trübt sich selbst nach längerem Stehen nicht, besitzt einen angenehmen, erfrischenden Geschmack und hat eine Temperatur von 12—14° C. Der Umstand, daſs das von Káposztás Megyer gelieferte Wasser, besonders seit Einschaltung des Dunakeszer Abschnittes, ständig rein erhalten wird und eine nahezu gleichmäſsige Temperatur besitzt, spricht auch dafür, daſs die Brunnen trotz des groſsen Verbrauches keiner übergroſsen Ausnutzung ausgesetzt sind und daſs die Eintrittsgeschwindigkeit des Wassers in die Brunnen nicht über jenes Maſs gesteigert wird, durch welches Trübungen in das Innere des Grundwasserträgers verursacht werden.

Das Terrain des Wasserspenders selbst ist unbewohnt, eine Verunreinigung des Bodens und der Brunnen durch Abfälle tierischen oder menschlichen Ursprunges daher ausgeschlossen, auſserdem ruht die Leitung in bewährten Händen, welche eine auf reiche Erfahrungen ruhende rationelle und ökonomische Ausnutzung des Wassergebietes bewerkstelligen und für die ungestörte, gleichmäſsige Wasserproduktion vollkommene Gewähr bieten.

3. Wasserwerk in der Markó utcza — „Weinbrunnen" (Tabelle V).

Die bakteriologischen Eigenschaften des aus dieser kleineren Wasserversorgungsanlage gewonnenen Wassers lassen im Vergleich zu den Jahren 1897—1900 in den letzteren Beobachtungsjahren gleichfalls eine Besserung erkennen. Während in der erwähnten Periode die monatlichen Mittelwerte groſsen Schwankungen unterworfen waren (6—1388), varierten die Werte in dem Zeitraum 1901—1904 zwischen 8—213. Seit dem Jahre 1905 ist die aus den monatlichen Untersuchungen gewonnene Mittelzahl ständig unter 100.

Ein Blick auf die Tabelle zeigt uns, daſs die Mittelwerte zwar im allgemeinen höhere sind wie die des Kâposztás Me-

gyerer Wassers, doch entspricht trotzdem das Wasser des Weinbrunnens in bakteriologischer Beziehung vollkommen den hygienischen Anforderungen.

Dieser Umstand erlaubt jedenfalls die Annahme, dafs das wasserspendende Gebiet keine Verunreinigung erfahren hat, was um so beachtenswerter ist, als das Terrain dieses Wasserwerkes sich, gleich dem Buda-Ujlaker, auf einem stark bebauten Gebiete befindet und aufserdem von den früheren bis in den Kies reichenden verfallenen Pumpbrunnen eine ungünstige Beeinflussung des Bodens zu befürchten stand.

4. **Peripheres Wasser** (Tabelle VI).

Mit einigen Worten sei auch des Bakteriengehaltes der aus den Zapfhähnen der Hausleitungen sämtlicher hauptstädtischer Stadtbezirke gewonnenen Wasserproben Erwähnung getan. Dieselbe zeigt im Verlaufe der Jahre dieselbe Tendenz zu einem Sinken der Keimzahl, wie das zentrale Wasser. Während, wie aus den Tabellen ersichtlich, in den Jahren 1897, 1898 und 1899 die monatlichen Mittelzahlen von über 100 Keimen die Regel waren und nicht selten auch solche über 600 gefunden wurden, worauf aber auch die damals noch bestandenen künstlichen Filter von Einflufs gewesen sein dürften, ist der Bakteriengehalt seither bedeutend gefallen, und die Mittelwerte befinden sich gewöhnlich stark unter 100. Eine einzige Ausnahme bildet der Monat Juni des Jahres 1902 auf der Pester Seite mit einer höheren (168) Keimzahl, deren Ursache jedoch, wie erwähnt, mit Bestimmtheit nicht nachgewiesen werden konnte.

Fasse ich nun zum Schlusse die Ergebnisse der im Verlaufe der letzten 12 Jahre an den von den drei gröfseren Wasserwerken gelieferten Wasserproben ausgeführten bakteriologischen Untersuchungen zusammen, so läfst sich daraus feststellen, dafs der Bakteriengehalt seit dem Jahre 1900 im allgemeinen eine Abnahme aufweist, welche insbesondere beim Káposztás Megyerer Werke seit dem im Jahre 1904 erfolgten Anschlusse der Duna-

keszer Anlage eine recht bedeutende ist. Das Wasser dieses Wasserwerkes, welches, wie erwähnt, den gröſsten Teil des linksuferigen und einen Teil des rechtsuferigen Stadtteiles mit Wasser versieht, enthält nun ständig eine so geringe Zahl von Bakterien, daſs dasselbe in bakteriologischer Beziehung als tadellos betrachtet werden kann. Das Wasserwerk in der Markóutcza mit der Bestimmung, einen kleinen Teil des linksuferigen Stadtteiles mit Wasser zu versehen, entspricht in den letzten vier Jahren auch allen Anforderungen, welche in hygienischer Beziehung an ein gutes Trinkwasser gestellt werden müssen. Die von Zeit zu Zeit auftretenden Anstiege des Bakteriengehaltes des Buda-Ujlaker Wasserwerkes, welchem die Aufgabe zufällt, den gröſseren Teil des am rechten Ufer befindlichen Stadtteiles mit Wasser zu versehen, erlauben den Schluſs, daſs die Filtrationsfähigkeit dieses Terrains gewissen Schwankungen unterworfen ist, welche jedoch laut der chemischen und bakteriologischen Untersuchungsbefunde die Eigenschaften des Wassers nie in dem Maſse zu beeinflussen vermögen, daſs dasselbe in hygienischer Beziehung beanstandet werden könnte.

Gleich den bakteriologischen Befunden sprechen auch die chemischen Untersuchungsergebnisse für die hervorragende Qualität des Wassers, insbesondere am linken Ufer.

Nimmt man auſserdem noch in Betracht, daſs die Produktionsfähigkeit der Wasserwerke den gröſsten Anforderungen im vollsten Maſse genügt und daſs die wissenschaftlichen Betrachtungen sowie die seit Jahren gesammelten Erfahrungen dafür sprechen, daſs die Wasserwerke noch eine Reihe von Jahren das Wasser qualitativ und quantitativ unverändert zu liefern imstande sein werden, so ist man zu der Annahme berechtigt, daſs sich die Hauptstadt Budapest mit Bezug auf ihr Trinkwasser in einer äuſserst günstigen Lage befindet.

Tabelle I.

Óbuda - Ujlak.

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
1897	—	—	—	—	—	—	—	304	648	311	430	131
1898	242	37	275	298	229	552	43	41	325	466	462	292
1899	60	234	319	643	726	419	390	643	477	668	542	423
1900	726	60	151	367	90	1174	277	—	154	113	79	344
1901	17	20	30	250	68	209	48	370	38	31	48	48
1902	61	211	99	187	243	380	88	248	108	225	78	87
1903	70	174	104	106	62	50	55	66	101	77	89	83
1904	101	94	108	44	45	44	182	144	616	294	271	92
1905	120	114	160	57	48	54	36	63	82	102	52	69
1906	71	60	61	50	62	37	44	77	45	57	63	50
1907	44	51	50	52	48	50	40	54	64	50	74	53
1908	40	36	36	46	73	54	26	65	158	124	46	89

Tabelle II.

Káposztás Megyer. — Untere Anlage.

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
1897	—	233	175	175	152	126	217	178	388	366	207	49
1898	120	220	240	264	232	355	365	405	311	440	247	107
1899	92	38	44	85	66	109	152	290	302	165	675	140
1900	206	1233	128	126	531	109	290	—	28	50	19	5
1901	8	6	7	7	9	9	46	13	12	10	14	13
1902	16	16	22	23	82	366	20	20	25	22	18	16
1903	22	17	24	21	22	21	21	13	11	11	13	20
1904	16	12	17	50	69	17	144	44	30	29	16	13
1905	18	12	18	10	13	21	38	12	12	13	12	22
1906	12	12	15	18	14	14	15	13	19	20	32	31
1907	14	20	18	23	16	13	24	15	17	9	20	17
1908	34	12	11	15	12	22	24	23	20	19	16	18

Tabelle III.

Káposztás Megyer. — Obere Anlage.

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
1897	—	—	218	109	161	177	181	198	317	194	251	152
1898	193	396	105	161	175	237	447	294	381	625	301	101
1899	111	41	71	106	221	292	424	266	417	268	63	20
1900	180	2050	174	1032	392	80	13	10	40	14	23	65
1901	8	5	6	7	7	9	30	9	7	25	16	12
1902	13	14	20	19	167	237	18	31	24	18	17	20
1903	18	18	24	25	16	13	20	13	12	12	13	11
1904	12	14	12	227	25	15	33	34	39	34	24	13
1905	18	12	17	11	15	21	32	11	13	12	14	18
1906	11	12	14	21	18	15	14	15	15	20	27	29
1907	15	20	20	22	21	15	24	12	17	19	17	23
1908	50	12	14	15	13	21	21	20	28	22	17	18

Tabelle IV.

Káposztás Megyer. — Dunakeszer Anlage.

1904	—	—	—	—	19	38	45	243	75	180	122	41
1905	15	55	23	13	32	32	20	15	23	13	16	13
1906	17	14	15	18	27	13	13	12	29	19	60	40
1907	—	—	24	24	22	24	24	19	14	12	39	17
1908	21	18	13	25	27	18	20	11	17	—	—	20

Tabelle V.

Markó utcza (Weinbrunnen).

1897	250	462	18	96	523	423	230	248	422	605	890	208
1898	164	160	300	264	444	700	438	836	500	550	506	245
1899	298	111	76	277	279	136	260	275	366	331	620	—
1900	32	1388	4	950	51	86	1042	—	6	45	14	10
1901	12	8	10	10	12	240	106	80	13	16	32	14
1902	29	33	37	38	50	326	45	120	66	63	43	60
1903	44	54	65	43	40	32	40	81	71	62	60	56
1904	70	66	57	38	36	34	150	160	213	136	77	55
1905	75	68	44	41	35	41	43	66	70	74	54	52
1906	59	45	55	43	47	34	33	46	40	44	47	47
1907	32	56	41	40	32	40	27	52	54	41	49	43
1908	52	33	34	31	56	52	17	61	48	52	48	63

Tabelle VI.

Peripherie. [1])

	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
1897	318	450	505	225	352	273	643	323	426	230	160	183
	—	—	—	—	307	—	408	310	259	—	182	130
1898	164	212	205	184	156	278	218	187	200	240	146	118
	185	—	150	153	145	300	263	192	124	260	134	95
1899	126	67	82	86	123	124	115	89	128	58	93	—
	113	79	80	94	97	170	127	116	249	92	—	—
1900	48	34	37	43	50	53	42	82	26	13	9	8
	56	42	53	48	54	62	58	42	32	9	6	18
1901	6	6	7	8	9	12	27	17	17	13	20	17
	7	7	8	11	11	13	30	47	18	17	21	23
1902	22	24	29	29	34	95	20	31	39	33	27	28
	32	59	42	52	97	168	30	70	67	57	41	46
1903	28	29	29	28	24	28	25	28	27	31	28	30
	43	54	56	48	38	36	30	50	52	56	50	46
1904	38	30	30	48	26	28	34	83	46	38	29	26
	49	32	47	36	35	33	59	64	36	51	34	43
1905	19	31	19	17	18	20	34	28	24	25	21	20
	39	56	30	37	33	28	59	63	31	39	36	42
1906	24	22	25	23	21	16	21	17	17	24	38	28
	45	46	30	32	52	27	28	36	26	47	55	37
1907	22	22	22	25	20	20	24	18	23	23	22	29
	34	32	29	31	30	27	30	34	29	29	35	36
1908	18	14	15	20	19	21	20	26	22	28	21	25
	27	23	25	22	27	53	20	42	28	20	36	39

1) Die Zahlen der oberen Reihe beziehen sich auf das Wasser des rechtsuferigen, die der unteren Reihe auf das des linksuferigen Stadtteiles.

Die Händedesinfektion bei Typhusbazillenträgern.

Von

Dr. **Walter Gaehtgens,**
Assistent an der Anstalt.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie zu Strafsburg i. Els.
Abteilung für Typhusbekämpfung.)

Die in den letzten Jahren, insbesondere bei der im Südwesten des Reiches ins Werk gesetzten verstärkten Typhusbekämpfung gewonnenen Erfahrungen haben gezeigt, dafs bei einer grofsen Zahl von Typhuserkrankungen die Infektion auf gesunde Personen zurückgeführt werden mufs, die in ihrem Organismus dauernd Typhusbazillen beherbergen. Bei diesen chronischen »Typhusbazillenträgern« pflegt sich in der Regel eine zurückliegende Erkrankung an Abdominaltyphus feststellen zu lassen. Indessen ist bei ihnen die klinische Genesung nicht mit einer Heilung im bakteriologischen Sinne Hand in Hand gegangen. Die Ausscheidung der Typhusbazillen dauert vielmehr fort und kann monate- und selbst jahrelang anhalten. Auf diese Weise werden die Bazillenträger, trotzdem sie sich völlig gesund und arbeitsfähig fühlen, zu einer steten Quelle der Gefahr für ihre Umgebung, in der sie, wenn einmal die Disposition für eine Infektion vorhanden ist, immer wieder zu Erkrankungen Veranlassung geben können.

Es mufs deshalb als eine der wichtigsten Aufgaben der Typhusbekämpfung die Unterdrückung der Vegetation und Ausscheidung von Typhusbazillen durch Gesunde angesehen werden,

worauf Professor Forster[1]) seit Jahren wiederholt hingewiesen hat. So lange es nicht gelingt, das Fortwuchern der Typhusbazillen im menschlichen Organismus zu unterdrücken, sind die Aussichten, dem Auftreten und der Verbreitung des Typhus mit Erfolg entgegenzutreten, recht gering. Bis zur Lösung dieses überaus schwierigen Problems, das Kliniker und Bakteriologen in gleicher Weise beschäftigt, wird man sich mit rein hygienischen Mafsnahmen begnügen müssen, um die Gefahr, welche von einem Bazillenträger ausgehen kann, auf ein Minimum zu reduzieren. Da sanitätspolizeiliche Verordnungen in der Bazillenträgerfrage zurzeit in Elsafs-Lothringen noch nicht existieren, wird man sich auf Hilfsmittel der persönlichen Hygiene für den Bazillenträger beschränken und vor allem die Unschädlichmachung der von ihm ausgeschiedenen Krankheitserreger anstreben müssen. Am leichtesten und sichersten liefse sich das durch vollständige Isolierung erreichen, wie unsere Erfahrungen in der Irrenanstalt Hördt (Klinger[2]), Kayser[3]), E. Levy und Kayser[4])), über die Professor Forster[1]) auf dem Naturforscherkongrefs in Dresden (1907) zu berichten Gelegenheit hatte, überzeugend dargetan haben. Auch von anderen Autoren sind die gleichen Beobachtungen gemacht worden. Indessen läfst sich ein so gewaltiger Eingriff in die persönliche Freiheit, wie ihn die ständige Isolierung darstellt, natürlich unmöglich bei gesunden, arbeitsfähigen Individuen durchführen. Hier ist ein Erfolg nur durch hinreichende Aufklärung und taktvolle Überwachung, sowie vor allem durch Anleitung zur peinlichsten Sauberkeit zu erzielen. Namentlich scheint uns die Beobachtung der gröfsten Reinlichkeit besonders vor den Mahlzeiten und nach jeder Defäkation von der gröfsten Bedeutung zu sein, um einer Weiterverbreitung der Typhuskeime durch den Bazillenträger vorzubeugen.

Diese allgemeine hygienische Forderung mufs in der Bazillenträgerfrage zunächst mit besonderem Nachdruck betont werden, da vornehmlich durch die nicht gereinigten Hände, wenn wir von der selteneren Vermittelung durch beschmutzte Leib- und Bettwäsche usw. absehen, der Infektionsstoff auf andere Personen und

Gegenstände direkt und indirekt übertragen werden kann. Grofse Beachtung verdient dieser Umstand bei Bazillenträgern, welche mit der Gewinnung, Zubereitung und dem Vertriebe fester und flüssiger Nahrungsmittel beschäftigt sind. Insbesondere wird schon eine geringfügige Verunreinigung der Milch, die bekanntlich den Mikroben vorzügliche Wachstumsbedingungen bietet, unter Umständen zu einer nicht zu unterschätzenden Gefährdung der Konsumenten führen können (Kayser[5]). Ähnlich verhält es sich, wenn Fleisch, Backwaren, Gemüse, Früchte etc. bei der Zubereitung von Bazillenträgern mit unsauberen Händen angegriffen und hernach roh oder unvollständig gekocht verzehrt werden.

Da der Kontakt des Bazillenträgers mit der Aufsenwelt einerseits von gefährlichen Folgen begleitet sein kann, sich andrerseits unmöglich verhindern läfst, mufs der Versuch gemacht werden, diese Berührungen unschädlich zu machen. Dafs sich derartige Bestrebungen auf eine exakte Reinhaltung der Hände richten müssen, lehren Erfahrungen, die wir wiederholt zu machen Gelegenheit hatten. Wir konnten nämlich mehrfach beobachten, dafs in der Umgebung von langjährigen Bazillenträgern, deren sorgfältige Körperpflege, ihrem Stande und ihrer Erziehung entsprechend, nicht in Zweifel gezogen werden konnte, Neuerkrankungen an Typhus niemals auftraten, während andrerseits gerade Dauerausscheider, bei denen sich eine peinliche Reinhaltung der Hände nicht unbedingt annehmen liefs, immer wieder zu Infektionen Veranlassung gaben. Wenngleich zur Erklärung dieser Tatsache auch andere Umstände zweifellos in Betracht gezogen werden müssen, so möchten wir das Moment der persönlichen Sauberkeit doch nicht für nebensächlich erachten. Um dieser Annahme eine experimentelle Grundlage zu geben, habe ich auf Anregung von Herrn Professor Forster versucht, im folgenden den Einflufs des Waschens auf die der Hand anhaftenden Fäzesbakterien klarzulegen, sowie eine möglichst einfache, sichere Methode der Händereinigung für Bazillenträger aufzufinden.

Da die Typhusbazillen von aufsen auf die Hände des Bazillenträgers kommen, also mehr oberflächlich sitzen, liefs sich an-

nehmen, daſs schon die einfache mechanische Händereinigung nicht ohne Einfluſs auf den Keimgehalt der Hand bleiben würde. Schon Seitz[6]) hatte darauf hingewiesen, daſs es leichter gelingen muſs, die erst vor kurzem an die Hände gelangten, noch nicht in die Tiefe der Haut eingedrungenen Krankheitserreger unschädlich zu machen, als die in den Ausführungsgängen der Drüsen befindlichen ständigen Bewohner der Haut zu beseitigen. Er konnte in der Tat nachweisen, daſs die mit Prodigiosuskeimen oder Luftkokken infizierten Hände nach $^3/_4$—1 Minute langem Waschen mit Wasser und Seife und Abtrocknen in einem sterilen Tuch überaus häufig keimfrei waren; Kolibazillen wurden durch energisches Waschen mit Wasser, Seife und Bürste von den künstlich infizierten Händen sogar immer vollständig entfernt. Auch Speck[7]) konnte nach der einfachen Waschung mit Wasser und Seife die Verminderung, in einem Falle sogar ein völliges Verschwinden der zur Infektion benutzten Kolimikroben von der Handfläche wahrnehmen; nur der Unternagelraum erwies sich, selbst nach Anwendung starker Desinfektionsmittel, noch immer als bakterienhaltig. Nach Salzwedel[8]) kann die Zahl der für gewöhnlich den Händen anhaftenden Bakterien schon durch die mechanischen Reinigungsverfahren erheblich vermindert werden. Die Abnahme der Keimzahl wird noch wesentlich erhöht, wenn die Waschungen in oft erneuertem Wasser oder am besten im flieſsenden Wasser ausgeführt werden. Folgt der mit Scheuern verbundenen Waschung eine energische Trockenreibung mit trockenen, reinen bzw. sterilen Handtüchern, so bleibt nach Haegler[9]) eine bedeutende Zahl von Keimen an den Tüchern haften.

Um zunächst den Einfluſs der einfachen Waschung mit Wasser und Seife auf den Gehalt der Hand an Darmbakterien festzustellen, verfuhr ich in Nachahmung der natürlichen Verhältnisse in der Weise, daſs die Hände durch Aufdrücken auf ein Stück Brot, das mit den Fäzes eines Bazillenträgers befeuchtet und dann mit durchlöchertem Zeitungspapier bedeckt worden war, infiziert, nach 0—10 Minuten langem Antrocknen mit Wasser und Seife in einem Becken von gewöhnlicher Gröſse

1 Minute gewaschen und dann mit ca. 5—7 ccm Bouillon sorgfältig abgespült wurden. Die Bouillon wurde schliefslich auf eine Endoplatte abgetropft, verrieben und 24 Stunden im Brutschrank gehalten.

Tabelle I.

Nr.	Infektion erfolgt durch	Antrocknen	Waschen mit Wasser und Seife	Resultat
1.	Aufdrücken der Hände auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes Stück Brot	nicht	1 Min.	viel Koli u. viel Typhus (etwas weniger wie bei 4.)
2.	Ebenso	5 Min.	1 Min.	0 Koli und mäfsig viel Typhus
3.	Ebenso	10 Min.	1 Min.	0 Koli und mäfsig viel Typhus
4.	Ebenso	nicht	nicht	viel Koli und viel Typhus

Die in Tabelle I niedergelegten Ergebnisse zeigen den Einflufs der Waschung, wie sie im täglichen Leben gewöhnlich ausgeführt wird, auf den Gehalt der Hände an Fäzesmikroben. Während sich im Kontrollversuch (4) nachweisen liefs, dafs durch das Aufdrücken der Hände auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes und mit Zeitungspapier bedecktes Stück Brot in der Tat eine bedeutende Anzahl von Darmbakterien auf die Hände gelangt, konnte durch die Versuche 1—3 festgestellt werden, dafs eine Verminderung dieser Keimmenge sich schon durch das einfache Waschen mit Wasser und Seife in einem Becken gewöhnlicher Gröfse erreichen läfst. Diese Abnahme erfolgt nicht überall gleichmäfsig. Sie bleibt in geringen Grenzen, wenn die Hände sofort nach der Infektion gewaschen werden. Geht der Waschung dagegen ein 5 und 10 Minuten langes Antrocknen der Bakterien an den Händen voran, so liefsen sich Kolibazillen gar nicht mehr, Typhusbazillen nur noch in deutlich verminderter Zahl nachweisen. Wie weit diese Abnahme dem Einflufs der Waschung oder einer eventuellen bakteriziden Wirkung der Hautdrüsensekrete zugeschrieben werden mufs, sei hier nicht weiter erörtert.

Jedenfalls zeigen die Versuche, dafs die einfache Waschung mit Wasser und Seife bei Benutzung eines Beckens zwar eine deutliche Keimverminderung an der Hand bewirkt, aber keineswegs imstande ist, die Hände von den Darmbakterien vollkommen zu befreien.

Es ergab sich nun weiter die Frage, ob sich nicht die Leistungsfähigkeit des einfachen Waschens auf geeignete Weise erhöhen liefse. Denn es leuchtet ein, dafs bei dieser Art der Händereinigung sich ein grofser Teil der abgeschwemmten Bakterien beim Abspülen der Hände in einem Becken an der Haut wieder ansetzen mufste. Diesem Haftenbleiben der Mikroorganismen mufste sich wenigstens teilweise vorbeugen lassen, wenn das Wasser erneuert oder noch besser fliefsendes Wasser benutzt wurde. Schliefslich konnte erwartet werden, dafs auch sorgsames Abtrocknen der Hände nach dem Waschen eine beträchtliche Keimverminderung zur Folge haben würde.

Tabelle II.

Nr.	Art der Infektion und Waschung	Resultate		
		Hohlhand	Finger-spitzen	Hand-rücken
1.	Hände auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes Stück Brot gedrückt, 1 Min. mit Wasser und Seife gewaschen, dann unter Wasserleitung abgespült und auf eine Endoagarplatte abgedrückt	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus
2.	Infektion ebenso. Hände nach der Waschung in einem zweiten Becken mit reinem Wasser abgespült, und auf eine Endoagarplatte abgedrückt	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus
3.	Infektion ebenso. Hände nach der Waschung mit sterilem Tuche abgetrocknet, mit Bouillon abgespült und auf eine Endoagarplatte abgedrückt	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus
4.	Kontrolle. Infektion ebenso. Hände mit Bouillon abgespült und auf eine Endoagarplatte abgedrückt	viel Koli u. sehr viel Typhus.		

Diese Vermutungen erhielten durch die in Tabelle II niedergelegten Untersuchungen ihre volle Bestätigung. Während der Kontrollversuch (4) zeigte, dafs der Infektionsmodus sich wirksam erwiesen hatte, indem durch das blofse Andrücken der Hände auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes Stück Brot zahlreiche Koli- und Typhusbazillen sich an der Haut festgesetzt hatten, geht aus den Reihen 1—3 der Einflufs der Reinigung ohne weiteres deutlich hervor. Die Abspülung der Hände sowohl in erneuertem als auch in fliefsendem Wasser, ferner das sorgfältige Abtrocknen in einem sterilen Tuche hatten in der Tat die Darmbakterien so vollkommen von der Haut entfernt, dafs der Züchtungsversuch ein negatives Resultat hatte.

Dieses Ergebnis war erstaunlich und mufste, falls sich seine Richtigkeit für alle Fälle bestätigte, die in zweckmäfsiger Weise ausgeführte mechanische Händereinigung als hinreichende Vorsichtsmafsregel für den Bazillenträger erscheinen lassen. Immerhin tauchten uns doch Bedenken an der Regelmäfsigkeit und Sicherheit dieser Erfolge auf, zumal da das Verfahren zum Nachweise der Bazillen möglichst einfach gewählt worden und vielleicht der Unternagelraum zu wenig mit dem Nährmedium in Berührung gekommen war, und führten zu einer Reihe von Nachprüfungen, deren eine in Tabelle III wiedergegeben ist.

Tabelle III.

Nr.	Infektion usw.	Nach der Waschung		Resultate		
				Hohlhand	Fingerspitzen	Handrücken
1.	1 Tropfen Typhusfäzes auf beiden Händen verrieben, 1 Min. Antrocknen, 1 Min. Waschen mit Wasser und Seife	Abspülen unter der Wasserleitung	Hände abdrücken auf eine Endoplatte	0 Koli 3 Typhus	0 Koli 1 Typhus	0 Koli 0 Typhus
2.	Ebenso	Abspülen in 2. Becken mit reinem Wasser		0 Koli 0 Typhus	0 Koli sehr wen. Typhus	0 Koli 0 Typhus
3.	Ebenso	Abtrocknen mit sterilem Tuche		0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus
4.	Kontrolle: Infektion ebenso, dann Hände abspülen mit Bouillon	—		wenig Koli, mäfsig viel Typhus		

Es zeigte sich, daſs die völlige Entfernung der Darmbakterien von den infizierten Händen sich durch die mechanische Händereinigung nicht immer erzielen läſst. Die Züchtung der Bazillen gelang in diesem, wie in anderen hier nicht näher aufgeführten Versuchen schon nach dem bloſsen Aufdrücken der gereinigten Hände auf eine Endoagarplatte. Besonders schwierig lieſs sich eine vollkommene Reinigung der Hohlhand und der Fingerspitzen erreichen, wo die vielen Rinnen und Falten der Haut, sowie besonders der Unternagelraum den Mikroben einen sicheren Unterschlupf bieten, während sich der glatte Handrücken nach der Waschung in der Regel als bakterienfrei erwies. Allerdings muſs hervorgehoben werden, daſs in diesen Versuchen die Infektion nicht durch Aufdrücken der Hände auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes Stück Brot erfolgte, sondern durch Verreiben eines Tropfens Typhusfäzes auf beiden Händen, also mit einer Bakterienmenge, welche die in Wirklichkeit in Betracht kommende Keimzahl vermutlich bedeutend übertrifft. Am sichersten lieſs sich die Keimfreiheit der Hände noch durch sorgfältiges Abtrocknen mit einem sterilen Tuche erzielen, wenigstens wurde danach stets die Anwesenheit beider Bakterienarten auf der Endoplatte vermiſst. Auffallend war in allen diesen Versuchen die scheinbar geringere Widerstandskraft, welche die im allgemeinen als weniger empfindlich geltenden Kolibazillen dem mechanischen Reinigungsverfahren entgegenzusetzen vermochten.

Faſst man die bisherigen Beobachtungen kurz zusammen, so läſst sich sagen, daſs die mechanische Händereinigung mit Wasser und Seife und Abtrocknen zwar nicht immer mit Sicherheit eine vollständige Entfernung der Darmbakterien von den Händen, immerhin aber eine sehr bedeutende Keimverminderung zu bewirken vermag. Es wäre jedenfalls schon viel gewonnen, wenn es sich jeder Bazillenträger zur Regel machte, vor jeder Mahlzeit und nach jeder Stuhlentleerung auf das peinlichste seine Hände zu säubern und insbesondere sorgfältig abzutrocknen. So manche Infektion und Hausepidemie lieſse sich bei strenger Be-

obachtung dieser Vorschriften vielleicht schon vermeiden. Im allgemeinen dürfte ja die Menge der bei der Defäkation auf die Hände gelangten Keime nicht sehr grofs sein, und es wäre daran zu denken, dafs einzelne wenige Typhuserreger, die unter gewöhnlichen Verhältnissen von dem Dauerausscheider auf seine Umgebung übertragen werden, von den natürlichen Schutzkräften eines gesunden Organismus vernichtet werden können. Wäre das nicht der Fall, so müfste die Zahl der durch Bazillenträger verursachten Erkrankungen eine viel bedeutendere sein, als es tatsächlich der Fall ist. Eine Infektion wird wohl erst zustande kommen, wenn die Zufuhr von Krankheitskeimen regelmäfsig und in grofsen Mengen erfolgt. Dem läfst sich aber, wie unsere durch zahlreiche Nachprüfungen bestätigten Versuche zeigen, schon durch die einfache mechanische Händereinigung bis zu einem gewissen Grade vorbeugen. Als völlig hinreichender Schutz kann allerdings die mechanische Händereinigung mit Wasser und Seife nicht immer gelten, und jeder gewissenhafte Arzt wird nicht umhin können, ängstlichen Bazillenausscheidern und besonders Personen, die sich mit der Bereitung und dem Vertriebe von Nahrungsmitteln befassen, noch den Gebrauch eines Desinfiziens anzuraten.

Es ist wohl selbstverständlich, dafs für unsere Frage der Händedesinfektion nicht die subtilen Verfahren, die eine totale Keimfreiheit der Hand erstreben, und deren Schwierigkeiten schon von den ersten Untersuchern (Kümmel[10]), Forster[11]), der zuerst die Bedeutung der Händedesinfektion auch für den Internisten betonte) richtig erkannt worden sind, in Betracht kommen können. Es mufs uns vielmehr eine Methode genügen, welche eine sichere schnelle Entfernung der Typhusbazillen gewährleistet, während die Abtötung der auch nach einer sorgfältigen Händedesinfektion an der Hand zurückbleibenden Bewohner der tieferen Hautschichten (meist Staphylococcus albus nach Gottschlich[20])) für unsere Zwecke nicht in Frage kommt. Bereits Seitz[6]) und Speck[7]), deren Beobachtungen über die mechanische Händereinigung mit Wasser und Seife sich im wesentlichen mit meinen obigen Ergebnissen decken, hatten zur sicheren Vernichtung

der Krankheitserreger bei kontagiösen Erkrankungen noch die Anwendung eines Desinfiziens nach der Waschung gefordert und die Brauchbarkeit verschiedener Antiseptika einer Prüfung unterzogen.

Bei der Wahl eines Desinfektionsmittels für Bazillenträger müssen verschiedene Gesichtspunkte von ausschlaggebender Bedeutung sein. Es mufs von einem solchen Antiseptikum gefordert werden sichere schnelle Abtötung der Bakterien, Reizlosigkeit für die Haut, Geruchlosigkeit und gefahrlose, einfache Anwendung. Diese Bedingungen erfüllen leider die meisten der starken und bekanntesten Desinfizientien (Sublimat, Sublamin, Lysol, Karbolsäure und andere) nicht. Während sich die Verwendung des Lysols und der Karbolsäure wegen ihrer hautreizenden Wirkung und ihres penetranten Geruches von selbst verbietet, könnte auch das Sublimat und Sublamin wegen seiner enormen Giftigkeit nicht ohne Bedenken den Händen der oft wenig einsichtsvollen, sorglosen Bazillenträger anvertraut werden. Wir sahen uns daher veranlafst, durch weitere Versuche ein geeignetes Antiseptikum ausfindig zu machen.

Vor allem wurde der Alkohol, der sich seit seiner Einführung in die chirurgische Händedesinfektion durch Fürbringer[12]), Reinicke[13]) und Ahlfeld[14]) immer mehr als unentbehrliches Antiseptikum erwiesen hat, einer eingehenden Prüfung unterzogen. Aufser dem absoluten wurde zunächst der 60proz. Alkohol, auf dessen stark bakterizide Eigenschaften Igersheimer[17]) auf Anregung von E. Levy hingewiesen hatte, untersucht, sowie der einfache Brennspiritus, den Schumburg[15]) als vorzügliches Desinfektionsmittel für die Händedesinfektion empfohlen hat. Auch von Kasten[16]), der in einer ausführlichen Übersicht die Verwendung des Alkohols als Desinfektionsmittel kürzlich erörtert hat, wird der Gebrauch des Alkohols in Form des in jedem Haushalt vorhandenen Brennspiritus speziell für die Hebammenpraxis warm befürwortet. Alle Alkoholproben wurden nach der Schumburgschen Vorschrift mit einem Zusatz von 1% Formalin versehen.

Des weiteren wurden geprüft Lysoform (2%), Wasserstoffsuperoxyd (10%), das von Uhlenhuth[18]) entdeckte Antiformin, von der Firma Schülke & Mayr hergestellte Karbolsäuretabletten,

sowie schliefslich einige andere Präparate, wie Formalin, Anindol u. a., die aber wegen ihrer geringen Wirksamkeit auf Bakteriensuspensionen von der Weiteruntersuchung ausgeschlossen wurden.

Die Karbolsäuretabletten (Diphenyloxalester) erwiesen sich als recht brauchbares Antiseptikum, indem sie in 0,5 proz. Lösung eine mit physiologischer Kochsalzlösung bereitete Typhusbazillenemulsion schon nach 1 Minute abzutöten vermochten, wie aus Tabelle IV hervorgeht. Die Prüfung wurde nach dem Vorgange von Jgersheimer in der Weise ausgeführt, dafs zu einer mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmten Typhusagarkultur verschiedene Mengen einer 10 proz. Tablettenlösung zugefügt wurden. Diesem Gemische wurde in bestimmten Zeitabständen je 1 ccm mittels steriler Pipette entnommen und in ein Kölbchen mit 100 ccm steriler Nährbouillon gebracht.

Tabelle IV.

Nr.	Typhusbazillenaufschwemmung	10% Tablettenlösung	Konzentration	Resultate nach einer Einwirkungsdauer von			
				1 Minute	2 Minuten	5 Minuten	10 Minuten
1.	9 ccm	1 ccm	1 %	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen	nicht gewachsen
2.	9,5 »	0,5 »	0,5 %	do.	do.	do.	do.
3.	9,75 »	0,25 »	0,25 %	gewachsen	gewachsen	gewachsen	gewachsen
4.	9,9 »	0,1 »	0,1 %	do.	do.	do.	do.

Indessen schien sich dieses bakterizide Vermögen der Karbolsäuretabletten nicht immer gleich zu verhalten, sondern bis zu einem gewissen Grade von der Beschaffenheit des Bakteriennährsubstrates abzuhängen. Verwandte ich nämlich statt der Kochsalzaufschwemmung eine Bouillonkultur, so erfolgte die Abtötung der Typhusbazillen in 1 proz. Lösung erst nach 5 Minuten, in 0,5 proz. Lösung noch nicht in 10 Minuten. Für die Händedesinfektionsversuche, deren Ergebnisse Tabelle V wiedergibt, wurden nach der Vorschrift 0,5 proz. Lösungen gebraucht.

Tabelle V.

Nr.	Infektion erfolgt durch	Waschen mit 0,5 proz. Karbolsäuretablettenlösung	Abspülung	Resultate
1.	Aufdrücken der Hände auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes Stück Brot	—	Abspülen mit Bouillon und Abdrücken der Hände auf Endoagar	viel Koli + viel Typhus
2.	Ebenso	1/2 Min.	Abspülen des Desinfiziens durch Übergiefsen der Hände mit 10 ccm Bouillon, Ablaufenlassen, erneutes Übergiefsen mit Bouillon u. Abdrücken der Hände auf Endoagar	0 Koli + 0 Typhus
3.	Ebenso	1 Min.		0 Koli + 1 Typhus
4.	Ebenso	2 Min.		viel Koli (?) + 0 Typhus

Wie aus diesen Aufzeichnungen hervorgeht, scheint die Desinfektionskraft der Karbolsäuretabletten in der Tat nicht unbedeutend zu sein, wiewohl auf eine sichere Vernichtung der Fäzesbakterien erst nach längerer Einwirkung gerechnet werden darf. Die Abtötung der Kolibazillen (das auffallende Ergebnis des Versuches 4 mufs wohl auf einen Versuchsfehler zurückgeführt werden) erfolgte schon nach $^1/_2$ Minute langem Waschen, die der Typhusmikroben mit Sicherheit erst nach 2 Minuten. Dagegen wurden die Typhusbakterien in anderen hier nicht näher aufgeführten Versuchen, bei denen die Hände mit einigen Tropfen einer 24 stündigen Typhusbouillonkultur infiziert wurden, schon nach $^1/_4$ und $^1/_2$ Minute regelmäfsig vernichtet. Obwohl nun diese bakteriziden Eigenschaften den Fäzesbakterien gegenüber sich nicht so wirksam zu äufsern vermochten wie gegenüber den Kulturbazillen, kann die Verwendung der Karbolsäuretabletten doch als zweckmäfsig erachtet werden, sofern nur die Desinfektion hinreichend lange und mit genügender Sorgfalt ausgeführt wird.

Die Wirksamkeit des Antiformins wurde zunächst an Fäzesbakterien in vitro geprüft, bevor zu den eigentlichen Hände-

desinfektionsversuchen übergegangen wurde. Die in Tabelle VI protokollierten Untersuchungen wurden in der Weise ausgeführt, dafs 9 ccm flüssige Typhusfäzes mit 1 ccm reinem Antiformin (= 10%) vermischt wurden, dem Gemenge vor und nach dem Zusatz des Desinfiziens je 1 Öse entnommen und auf Endoagar kultiviert wurde.

Tabelle VI.

Nr.	Gemisch in vitro	Einwirkung des Antiformins	Resultate (1 Öse auf Endoagar)
1.	Typhusfäzes	—	sehr viel Koli + sehr wenig Typhus
2.	Typhusfäzes + 10% Antiformin	15 Min.	mäfsig viel Koli + sehr wenig Typhus
3.		30 Min.	sehr wenig Koli + 0 Typhus
4.		1 Std.	0 Koli + 0 Typhus
5.		2 Std.	ebenso
6.		3 Std.	ebenso

Wie aus diesen Ergebnissen hervorgeht, ist die bakterizide Kraft einer 10proz. Antiforminlösung gegenüber flüssigen Typhusfäzes in vitro als recht gering zu bezeichnen. Die sichere Abtötung der Typhusbazillen erfolgte erst nach ½ Stunde, Kolibakterien liefsen sich erst nach 1 Stunde nicht mehr nachweisen. Trotz dieses wenig ermutigenden Resultates wurde doch noch die Wirksamkeit des Antiformins auf die den Händen anhaftenden Mikroorganismen geprüft, da uns ein Übertragen der Ergebnisse, wie sie sich in vitro feststellen liefsen, in die Praxis nicht ohne weiteres statthaft schien. Die Versuche wurden mit 1 und 2proz. Lösungen sowohl an Kulturbakterien als auch an Typhusfäzes, welche an den Händen angetrocknet waren, ausgeführt, wie aus Tabelle VII (S. 246) ersichtlich ist.

In der Tat entsprechen diese Befunde im wesentlichen den in vitro gemachten Beobachtungen. Wenn auch beim Vergleich beider Tabellen gewisse Differenzen der beiden Bakterienarten hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Antiformin auffallen, so sind das Unterschiede, die vermutlich durch die ungleiche Resistenz der verwandten Mikroben, Schwankungen

Tabelle VII.

Nr.	Hände infiziert durch	Gewaschen mit Antiforminlösung	Dauer der Waschung	Nach der Desinfektion	Resultate (auf Endoagar)
1.	Aufdrücken auf ein mit Typhusbouillon befeuchtetes Stück Brot	—	—	Hände mit Bouillon gründlich abgespült und auf Endoagar abgedrückt.	sehr viel Typhus
2.		1 %	½ Min.		viel Typhus
3.		1 »	1 »		wenig Typhus
4.		1 »	2 »		0 Typhus
5.		2 »	½ »		wenig Typhus
6.		2 »	1 »		do.
7.		2 »	2 »		do.
8.	Aufdrücken auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes und mit durchlöchertem Zeitungspapier bedecktes Stück Brot	—	—		viel Koli + sehr viel Typhus
9.		1 %	½ Min.		wenig Koli + viel Typhus
10.		1 »	1 »		sehr wenig Koli + viel Typhus
11.		1 »	2 »		0 Koli + wenig Typhus
12.		2 »	½ »		0 Koli + viel Typhus
13.		2 »	1 »		0 Koli + sehr wenig Typhus
14.		2 »	2 »		0 Koli + 0 Typhus.

der an die Hand gelangten Bakterienmenge und andere geringfügige unkontrollierbare Versuchsbedingungen ihre natürliche Erklärung finden. Im wesentlichen zeigen beide Versuchsreihen übereinstimmend, dafs eine schnelle, sichere Abtötung der Fäzesbakterien sich durch das Antiformin nicht erreichen läfst, und darum das Antiformin, zumal es schon in 1 und 2proz. Lösungen die Haut beträchtlich angreift, für die Händedesinfektion der Bazillenträger nicht in Frage kommen kann.

Schliefslich wurden noch der Alkohol in verschiedenen Verdünnungen, ferner Lysoform (2 %) und Wasserstoffsuperoxyd (10%) in ähnlicher Weise einer Prüfung unterzogen. Auf die sauber gewaschenen Hände wurden einige Tropfen einer 24stündigen Typhusbouillonkultur gegossen und durch längeres Reiben auf beide Hände möglichst gleichmäfsig verteilt. Dann wurden die Hände ¼, ½, 1 und 2 Minuten lang mit dem Desinfiziens mittels Wattebausches abgerieben und durch Übergiefsen mit ca. 6 ccm

steriler Bouillon das Antiseptikum abgespült. Zuletzt wurden die Hände mit weiteren 6 ccm Bouillon schnell und gründlich abgewaschen und auf eine Endoagarplatte abgedrückt.

Tabelle VIII.

Nr.	Desinfiziens	Dauer der Waschung			
		1/4 Minute	1/2 Minute	1 Minute	2 Minuten
1.	Absoluter Alkohol (+ 1 % Formalin)	0 Typhus	1 Typhus	0 Typhus	0 Typhus
2.	60 proz. Alkohol (+ 1 % Formalin)	0 »	0 »	0 »	0 »
3.	Brennspiritus (+ 1 % Formalin)	0 »	0 »	0 »	0 »
4.	2 proz. Lysoform	sehr viel Typhus	sehr viel Typhus	sehr viel Typhus	viel Typhus
5.	10 proz. Wasserstoffsuperoxyd	viel Typhus	wenig Typhus	mäfsig viel Typhus	wenig Typhus

Die geringste bakterizide Kraft gegenüber Typhusbazillen besitzt nach den in Tabelle VIII niedergelegten Ergebnissen das 2proz. Lysoform, das selbst nach 2 Minuten dauernder Anwendung nur eine geringe Keimverminderung zu bewirken vermochte. Ebenso mufs das 10proz. Wasserstoffsuperoxyd als für unsere Zwecke nicht ausreichend gelten, da es selbst nach 2 Minuten nicht im entferntesten alle Mikroben abgetötet hatte. Dementsprechend hatte auch Schaeffer[19]) gefunden, dafs 4proz. Lysoform bei 5 und 10 Minuten langer Einwirkung keinerlei keimtötende Wirkung auf Staphylokokken und den Micrococcus tetragenus ausübte, während Speck nach Desinfektion mit 1 und 3proz. Wasserstoffsuperoxyd sehr viele Kolibakterien selbst an der Handfläche nachweisen konnte. Durchaus befriedigende Ergebnisse gab der Versuch dagegen für den Alkohol in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Reinicke, Schumberg, Igersheimer, Kasten u. a. Während die Wirksamkeit des absoluten Alkohols, entsprechend den Beobachtungen anderer Autoren (Gottschlich)[20]), weniger stark und sicher zu sein scheint, vermochte

sowohl der 60proz. als auch der einfache Brennspiritus schon nach $^1/_4$ Minute die Gesamtzahl der Keime unschädlich zu machen.

Es mufs daher der Alkohol als ein Desinfektionsmittel angesehen werden, das sich in hohem Grade dazu eignet, von den Bazillenträgern für die Händereinigung benutzt zu werden. Um seine Anwendung überall, auch aufserhalb des Hauses, zu ermöglichen, wäre er an die Bakterienausscheider in kleinen, sorgfältig verschlossenen Fläschchen zu verabfolgen, welche der Träger ohne grofse Belästigung stets bei sich führen könnte. Oder es könnte statt dessen, was uns praktischer erscheint, ein mit Alkohol oder Brennspiritus getränktes Läppchen in einer gut schliefsenden kleinen Blechbüchse benutzt werden. Dafs sich die Wirksamkeit des Alkohols in dieser Form beträchtlich lange Zeit unverändert erhält, ist aus den Tabellen IX und X ersichtlich.

Tabelle IX.

Nr.	1 Tropfen Typhusfäzes auf beiden Händen verrieben, dann	Hohlhand	Fingerspitzen	Handrücken
1.	Mit Bouillon abgespült und Hände auf Endoagar abgedrückt	sehr viel Koli sehr viel Typhus	sehr viel Koli sehr viel Typhus	sehr viel Koli sehr viel Typhus
2.	Hände $^1/_2$ Minute mit Läppchen abgerieben, das mit Brennspiritus getränkt 24 Stunden in gut schliefsender Blechbüchse aufbewahrt worden war. Dann Abspülen der Hände mit Bouillon und Abdrücken auf Endoagar	0 Koli 1 Typhuskolonie	0 Koli 0 Typhuskolonie	0 Koli 1 Typhuskolonie
3.	Hände 1 Minute mit demselben Läppchen wie bei 2 abgerieben, mit Bouillon abgespült und auf Endo abgedrückt	0 Koli 1 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 2 Typhus

Tabelle X.

Nr.	1 Tropfen Typhusfäzes auf beiden Händen verrieben, dann	Hohlhand	Fingerspitzen	Handrücken
1.	Mit Bouillon abgespült und Hände auf Endoagar abgedrückt	sehr wenig Koli wenig Typhus	sehr wenig Koli wenig Typhus	0 Koli 0 Typhus
2.	Hände $^1/_2$ Minute mit Läppchen abgerieben, das mit Brennspiritus getränkt 48 Stunden in gut schliefsender Blechbüchse aufbewahrt worden war. Dann Abspülen der Hände mit Bouillon und Abdrücken auf Endoagar	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus
3.	Hände 1 Minute mit demselben Läppchen wie bei 2 abgerieben, mit Bouillon abgespült und auf Endoagar abgedrückt	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus	0 Koli 0 Typhus

Diese Ergebnisse zeigen, dafs ein mit Brennspiritus getränktes Läppchen auch noch nach zweitägiger Aufbewahrung in einer gut schliefsenden Blechbüchse für die Händedesinfektion erfolgreich benutzt werden kann. Demnach wäre es nur nötig, die Anfeuchtung des Läppchens jeden zweiten oder dritten Tag vorzunehmen. Der Brennspiritus müfste, entsprechend dem Bedürfnis, den Bazillenträgern kostenlos in gröfseren Mengen zur Verfügung gestellt und kann, um den unangenehmen Geruch zu verdecken, zweckmäfsig mit einigen Tropfen Geraniumöl o. dgl. vermischt werden. Um einer Verwendung des Alkohols zu anderen häuslichen Zwecken vorzubeugen, dürfte es sich empfehlen, ihn dem Bazillenträger unter einem besonderen Namen auszuhändigen, der Herkunft und Art des Mittels verdeckt. Prof. Forster verwendet dafür die Bezeichnung »Manupur«, um auf diese Weise gleichzeitig die hygienische Bedeutung der Flüssigkeit zum Ausdruck zu bringen. Der in Tabelle IX auffallende Befund, dafs

nach der Desinfektion mit dem 24 Stunden lang aufbewahrten Läppchen sich noch vereinzelte Typhuskeime nachweisen liefsen, darf nicht wundernehmen angesichts der ungeheuren Menge von Koli- und Typhusbakterien, die, wie der Kontrollversuch (IX, 1) zeigt, die Hände infiziert hatten. Ist die den Händen anhaftende Keimmenge geringer (X, 1), wie es den natürlichen Verhältnissen wohl weit eher entsprechen wird, so vermag auch die Anwendung eines 48 Stunden lang aufbewahrten Läppchens die Fäzesmikroben vollkommen von den Händen zu entfernen.

Als wirksames Ersatzmittel für den Brennspiritus kann, wie aus Tabelle XI zu ersehen ist, auch das Eau de Cologne herangezogen werden, dessen Verwendung bei allen besser situierten Bazillenträgern wohl kaum auf Schwierigkeiten stofsen wird, während den Trinkbranntweinen nur eine beschränkte Bedeutung zuerkannt werden kann.

Tabelle XI.

Nr.	Hände infiziert durch Aufdrücken auf ein mit Typhusfäzes befeuchtetes Stück Brot, dann desinfiziert mit	Dauer der Desinfektion	Nach der Desinfektion	a) Handfläche	b) Fingerspitzen	c) Handrücken
1.	Kontrolle (ohne Desinfektion)	Abspülen der Hände mit Bouillon u. Aufdrücken auf Endoagar		viel Typhus	viel Typhus	wenig Typhus
2.	40 % Alkohol	1/4 Min.	Abspülen des Desinfiziens durch Übergießen der Hände mit 10 ccm Bouillon; dann Waschen mit 10 ccm Bouillon u. Abdrücken der Hände auf Endoagar.	wenig Typhus	wenig Typhus	sehr wenig Typhus
3.		1/2 »		wenig Typhus	sehr wenig Typhus	0
4.		1 »		wenig Typhus	wenig Typhus	0
5.		2 »		0	wenig Typhus	0
6.	Eau de Cologne	1/4 »		0	0	0
7.		1/2 »		0	0	0
8.		1 »		0	0	0
9.		2 »		0	0	0

Wie aus den vorstehenden Angaben hervorgeht, verfügt das Eau de Cologne in der Tat über beträchtliche bakterizide Eigenschaften, die seine Verwendung als durchaus zweckmäfsig erscheinen lassen. Bereits nach einer Desinfektion von 1/4 Minute Dauer erwiesen sich die Hände als frei von Typhusbazillen, die, wie der Kontrollversuch zeigte, in reichlichen Mengen in den auffälligerweise äufserst koliarmen Fäzes enthalten waren. Ebenso liefsen sich natürlich auch andere stärkere alkoholische Erzeugnisse (Rum, Arak) mit Erfolg verwenden. Dagegen zeigte der 40proz. Alkohol eine geringe Desinfektionskraft. Zwar liefs sich auch bei ihm nach 2 Minuten eine ganz beträchtliche Keimverminderung nachweisen, doch steht seine Wirksamkeit hinter der des Eau de Cologne deutlich zurück. Immerhin dürfte der Trinkbranntwein unter Umständen als Notbehelf in Betracht kommen in Form der stärkeren Schnapssorten, deren Alkoholgehalt bekanntlich 46 bis 50 % beträgt. Nach der Desinfektion kann der Alkohol (auch der Brennspiritus) durch Waschen mit Wasser und Seife von der Hand entfernt werden, da möglicherweise durch das blofse Verdunsten bei täglichem Gebrauch die Haut angegriffen werden würde.

Ein Blick auf das Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen zeigt, dafs es in der Tat ohne grofsen Aufwand an Zeit und Mühe gelingt, die Hände von den an ihnen haftenden Fäzesmikroben zu befreien. Jede Untersuchungsanstalt wird daher, wie es ja auch bereits überall geschieht, ihre Hauptaufgabe darin erblicken müssen, nicht nur jeden neuentdeckten Bazillenträger über seinen Zustand aufzuklären, sondern auch besonders ihn darauf hinzuweisen, wie er der seiner Umgebung drohenden Gefahr wirksam vorbeugen kann. Eine weitergehende Kontrolle der Dauerausscheider durch die Anstalt, abgesehen von den in regelmäfsigen Zwischenräumen zu wiederholenden Untersuchungen der Dejekte, erscheint meist nicht ratsam angesichts der unverhohlenen Mifsstimmung, die dem Vertreter der Anstalt gar nicht selten entgegentritt. Besonders auf dem

Lande, wo die Ankunft eines Fremden von den Nachbarn fast niemals unbemerkt bleibt und immer zu Gerede Anlaſs gibt, werden diese Besuche von dem Bazillenträger als unliebsame Überwachung empfunden und sollten daher, um die Leute nicht widerspenstig zu machen, möglichst eingeschränkt werden. Da aber andrerseits auch eine gelegentliche persönliche Kontrolle aus vielen Gründen durchaus wünschenswert erscheint, wäre daran zu denken, durch die Vermittlung entweder der Hausärzte, denen ihr Beruf schon ohnehin eine Vertrauensstellung in der Familie einräumt, oder von Gemeindeschwestern, deren Anstellung Kirchner[21]) warm befürwortet, auf die Bazillenträger einzuwirken und sie im Interesse ihrer Angehörigen zur Beobachtung der Vorsichtsmaſsregeln zu ermahnen. Die wesentlichste Hilfe wird auch dabei immer der gute Wille der Dauerausscheider selbst bilden, während Unzugänglichkeit und Trotz von vornherein alle Bemühungen illusorisch machen wird. Um die Bazillenträger über die Bedeutung ihres Zustandes und die zu beobachtende Vorsicht aufzuklären, werden jedem neuentdeckten Träger die im nachfolgenden abgedruckten auf Veranlassung von Prof. Forster aufgestellten Verhaltungsmaſsregeln seitens der hiesigen Anstalt ausgehändigt, wie sie ähnlich neuerdings auch von Heyn[22]) u. A. vorgeschlagen worden sind.

Verhaltungsmaſsregeln für Typhusbazillenträger.

1. Der Typhus verläuft in der schwereren Form des Nervenfiebers, in der leichten des Schleimfiebers oder auch unter kaum bemerkbaren Krankheitserscheinungen; er wird durch Krankheitskeime — die Typhusbazillen — hervorgerufen.

2. Der Typhuskranke beherbergt Typhusbazillen in seinem Körper und scheidet sie während der Krankheit mit dem Stuhlgang und Urin aus.

3. Einzelne Personen haben noch monate- und jahrelang nach überstandenem Typhus oder auch ohne vorausgegangene Erkrankung in ihrem Stuhle Typhusbazillen und sind damit sogenannte »Typhusbazillenträger« geworden.

4. Die Typhusbazillenträger leiden in der Regel an Erkrankungen der Gallenwege, die sich durch vorübergehende Koliken, Anfälle von Gelbsucht, Gallensteine, häufig aber auch gar nicht bemerkbar machen.

5. Bazillenträger können, ebenso wie Typhuskranke, andere Personen mit Typhus anstecken.

6. Die Ansteckung erfolgt wohl am häufigsten durch die Hand, an die bei Benutzung des Abortes usw. leicht Typhusbazillen gelangen, dann auch durch beschmutzte Leib- und Bettwäsche.

7. Die Übertragung der Krankheitskeime von der Hand auf andere Personen geschieht entweder durch direkte Berührung oder indirekt, indem die ungereinigte Hand Gegenstände, Nahrungsmittel usw. anfaſst, die dann von anderen Personen gebraucht werden.

8. Es ist möglich, daſs Typhusbazillenträger auch sich selbst anstecken. In solchen Fällen ist eine Verschlimmerung des etwa bestehenden Gallenleidens zu erwarten.

9. Bazillenträger können die Ansteckung ihrer Umgebung und ihrer eigenen Person vermeiden; dazu ist folgendes unbedingt nötig:

a) Der Bazillenträger muſs sich stets und in allem der gröſsten Reinlichkeit befleiſsigen.

b) Morgens beim Aufstehen, vor jeder Mahlzeit und vor Berührung von Speisen und Getränken (besonders Milch) ist eine gründliche Reinigung der Hände vorzunehmen.

c) Der Bazillenträger muſs nach jeder Benutzung des Abortes die Hände mit Wasser und Seife oder mit einem Desinfektionsmittel reinigen. Im Aborte muſs immer Papier in genügender Menge zur Säuberung vorhanden sein.

d) Der Bazillenträger muſs sein eigenes Handtuch haben, das nur von ihm allein benutzt wird.

e) Die schmutzige Leib- und Bettwäsche des Bazillenträgers soll beim Wechseln mindestens 1 Stunde lang in Kresolwasser (2 Eſslöffel Kresolseifenlösung auf 1 l Wasser) ein-

geweicht und dann erst in der üblichen Weise gewaschen werden.

f] Der Bazillenträger mufs sich von der Herstellung und dem Vertriebe von Nahrungs- und Genufsmitteln möglichst fernhalten.

10. Es liegt im eigenen Interesse der Bazillenträger, dafs sie von Zeit zu Zeit (etwa monatlich einmal) Stuhlgang und Urin an die bakteriologische Anstalt zu Strafsburg einschicken, um feststellen zu lassen, ob sie überhaupt noch Bazillenträger sind. Die Untersuchung geschieht kostenlos; postfreie Versandgefäfse werden von der Anstalt auf Wunsch zugeschickt.

11. Über die Art der von Bazillenträgern anzuwendenden Desinfektionsmittel gibt die Anstalt bereitwilligst Auskunft.

12. Die Bazillenträger haben die moralische Pflicht, durch gewissenhafte Einhaltung dieser auf das notwendigste beschränkten Vorsichtsmafsregeln zu verhindern, dafs der Typhus durch sie weiter verbreitet wird.

Bakteriologische Anstalt für Unterelsafs
Strafsburg, Spitalwallstrafse.

Zusammenfassung.

1. In der Bazillenträgerfrage mufs, so lange es nicht gelingt, das Fortwuchern der Typhusbazillen im menschlichen Organismus zu unterdrücken, das Moment der persönlichen Sauberkeit, speziell der Händereinigung, zur Verhütung von Infektionen mit besonderem Nachdruck betont werden.

2. Die einfache Reinigung mit Wasser und Seife bei Benutzung eines Beckens ohne nachfolgendes Abtrocknen bewirkt zwar eine deutliche Keimverminderung an der Hand, ist aber nicht imstande, die Hände von den Fäzesbakterien vollkommen zu befreien.

3. Die Händereinigung mit Wasser und Seife, sowohl in erneuertem als auch in fliefsendem Wasser, sowie besonders das sorgfältige Abtrocknen vermag oft eine vollständige Entfernung der Darmmikroben von den infizierten Händen, immer aber

wenigstens eine sehr bedeutende Keimverminderung zu bewirken.

4. Auf die mechanische Händereinigung mit Wasser und Seife und gründlichem Abtrocknen ist demnach das Hauptgewicht zu legen.

5. Da die mechanische Händereinigung mit Wasser und Seife als völlig hinreichender Schutz indes nicht immer gelten kann, würde sich, besonders für in Nahrungsmittelbetrieben beschäftigte Personen, noch die nachherige Anwendung eines Antiseptikums empfehlen.

a) Das Antiformin ist für die Händedesinfektion der Bazillenträger nicht geeignet, ebensowenig Lysoform und Wasserstoffsuperoxyd.

b) Die Verwendung von Karbolsäuretabletten kann als zweckmäſsig erachtet werden, sofern nur die Desinfektion hinreichend lange und mit genügender Sorgfalt ausgeführt wird.

c) Der Alkohol, besonders in der Form des Eau de Cologne und des einfachen Brennspiritus eignet sich hervorragend dazu, von den Bazillenträgern für die Händedesinfektion benutzt zu werden.

Strafsburg i. Els., Dezember 1909.

Literatur.

1. Forster, Über die Beziehungen des Typhus und Paratyphus zu den Gallewegen. — Verhandlungen der Deutschen pathol. Gesellschaft 1907. — Münch. med. Wochenschr. 1908, Jahrg. 55, Nr. 1.
2. Klinger, Über Typhusbazillenträger. Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1906, Bd. 24, S. 91—96.
3. Kayser, Über die Gefährlichkeit von Typhusbazillenträgern. Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1906, Bd. 24, S. 176—180.
4. E. Levy und Kayser, Befunde bei der Autopsie eines Typhusbazillenträgers. — Autoinfektion. — Über die Behandlung der Leiche. Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1907, Bd. 25, S. 254—258.
5. Kayser, Milch und Typhusbazillenträger. Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1906, Bd. 24, S. 173—175.

6. Seitz, Über Händeinfektion und -desinfektion. Zentralbl. f. Bakteriol. 1904, Bd. 37, S. 721.
7. Speck, Hygienische Händedesinfektion. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten 1905, Bd. 50, S. 502—518.
8. Salzwedel, Die Bedeutung der Händereinigung für allgemeine hygienische Zwecke. — Verhandlungen der Deutschen Gesellsch. f. öffentl. Gesundheitspflege zu Berlin. — Hyg. Rundschau. 1906, Bd. 16, S. 788 bis 812.
9. Haegler, Händereinigung, Händedesinfektion und Händeschutz. — Basel 1900.
10. Kümmel, Die Bedeutung der Luft und Kontaktinfektion für die praktische Chirurgie. Deutsch. med. Wochenschr. 1885, Nr. 22.
11. Forster, Wie soll der Arzt seine Hände reinigen? Zentralbl. f. Klin. Medizin 1885, Nr. 18.
12. Fürbringer, Untersuchungen und Vorschriften über die Desinfektion der Hände des Arztes nebst Bemerkungen über den bakteriologischen Charakter des Nagelschmutzes. — Wiesbaden 1888.
13. Reinicke, Bakteriologische Untersuchungen über die Desinfektion der Hände. Zentralbl. f. Gynäkol. 1894, Bd. 47, S. 1189—1199.
14. Ahlfeld, Die Desinfektion des Fingers und der Hand vor geburtshilflichen Untersuchungen. Deutsch. med. Wochenschr. 1895, Nr. 51.
15. Schumburg, Die Händedesinfektion nur mit Alkohol. Arch. f. klin. Chirurgie 1906. — Deutsch. med. Wochenschr. 1908, Bd. 34, Nr. 8, S. 330 bis 331.
16. Kasten, Über Händeasepsis. Diss. Strafsburg. 1908.
17. Jgersheimer, Über die bakterizide Kraft des 60 proz. Alkohols. Zentralbl. f. Bakt. 1906, Bd. 40, S. 414—419.
18. Uhlenhuth und Xylander, Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. Berl. klin. Wochenschr. 1908, Jahrg. 45, Nr. 29, S. 1346—1347.
19. Schaeffer, Weitere Beiträge zur Händedesinfektion. Monatsschrift f. Geburtsh. u. Gynäkol., Bd. XIX, Heft 3 u. 5.
20. Gottschlich, Desinfektion. — Kolle u. Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. IV, S. 179—265.
21. Kirchner, Die Verbreitung übertragbarer Krankheiten durch sogenannte ›Dauerausscheider‹ und ›Bazillenträger‹. Klin. Jahrbuch 1908, Bd. 19, S. 473—482.
22. Heyn, Die sanitätspolizeiliche Bedeutung der Bazillenträger bei der Verbreitung des Typhus, der epidemischen Genickstarre und der Diphtherie. Reichs-Medizinal-Anzeiger 1909. Jahrg. 34, Nr. 19, S. 366—367.

Beitrag zum Studium des Antagonismus zwischen den Karzinom-, Spirillen- und Trypanosomeninfektionen[1]).

Von

Dr. **Franz Daels**,
Assistenten am Hygienischen Institut der Universität Gent.

Das Studium der Abänderungen, die sich in der Entwicklung der verschiedenen Krankheitsvorgänge durch ihr gleichzeitiges Auftreten bei demselben Tier zeigen, ist ein verhältnismäfsig wenig erforschtes Gebiet.

Ordnungsmäfsig in diesem Sinne geleitete Nachforschungen scheinen wünschenswert sowohl für das reine theoretische Interesse als auch für die mögliche praktische Verwendung von neuen Ergebnissen.

In diesem ersten Versuch haben wir bei der Maus die verschiedenen Kombinationen der experimentellen Karzinom-[2]), Spirillen- und Trypanosomeninfektionen studiert.

Loeffler[3]) nimmt einen Antagonismus zwischen Krebs und Malaria an.

---

1) Die vorliegende Arbeit wurde in ihrem Hauptteil durch die belgische ›Académie de médecine‹ preisgekrönt. (Prix Alvarengha 1909.)

2) Wenn wir den experimentellen Krebs als eine Infektion bezeichnen, so soll damit nicht gesagt sein, dafs wir die ›parasitäre‹ Ätiologie des Krebses annehmen.

3) Loeffler, Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 42.

Trautmann[1]) studierte den Antagonismus zwischen der Infektion durch Rekurrensspirillen und verschiedenen Trypanosomiasen.

Karzinom.

Unseren Krebsstamm bekamen wir, dank der Bereitwilligkeit von Prof. Lewin, aus der v. Leydenschen Abteilung für das Studium der Krebskrankheiten an der Charité in Berlin. Es ist ein typisches, alveolares Karzinom, Resultat der weiteren Impfung des Jensenschen Stammes. Aufeinander folgende Impfungen, die immer mit Geschwülsten, welche die schnellste Entwicklung aufwiesen, vorgenommen wurden, hatten es uns ermöglicht, für gewisse Impfungsserien 80% Ausbeute zu bekommen.

Technik: Unsere Impfungstechnik ist ganz einfach. Die Maus wird von einem Gehilfen ausgestreckt gehalten. Ein Wattepfropfen, der mit Alkohol getränkt ist, reinigt den hinteren Teil des Rückens des Tieres und entblöfst durch Entfernung der Haare eine kleine Hautfläche. Ein aseptischer Trokar macht nun eine Öffnung, durch welche man unter die Haut die Kanüle eines anderen Trokars schiebt; dieser enthält ein Krebspartikelchen, so grofs wie ein Hirsekorn. Das Krebspartikelchen wird in das subkutane Zellgewebe in grofser Entfernung von der Impfungswunde hineingeschoben. Man schliefst die Wunde mit Kollodium.

Entwicklung: In den ersten Tagen, die der Impfung folgten, bemerkte man beim Betasten das eingeimpfte Teilchen nicht mehr oder man bemerkte es unter der Form einer kleinen weichen Geschwulst. Gegen den 5. oder 6. Tag fühlte man unter der Haut bei einer gewissen Anzahl von Tieren einen kleinen harten Körper wie ein Mohnkorn. Am 9. bis 12. Tage hatte ein Teil der Gebilde die Gröfse eines Hirsekornes oder noch mehr erreicht, am 20. Tage hatten mehrere die Gröfse einer Erbse, während die meisten unter ihnen die eines Hirsekornes erreicht hatten. Andere Geschwülste hatten zu diesem Zeitpunkt den

1) Trautmann, Étude exp. sur la combinaison du spirille de la Tick-fever et de diverses trypanosomiases. Ann. Pasteur, 1907, p. 100.

Umfang eines Mohnkornes bewahrt, während eine gewisse Zahl von »Mohnkörnern«, von 10 bis 15%, in Rückbildung begriffen waren. Nur selten sahen wir, daſs Geschwülste von der Gröſse eines Hirsekornes noch der Rückbildung anheimfielen.

Im Laufe des 2. Monats kann das Impfungsgewebe bis zur Gröſse einer Kirsche, einer Bohne und im Laufe des 3. Monats einer Wallnuſs heranwachsen. Das Wachstum dauert an, bis es den Tod des Tieres durch Kachexie oder Infektion im Laufe des 3. oder 4. Monats herbeiführt.

Ein gewöhnlicherer Fall als die Regression der kleinen harten, runden und lokalisierten Geschwülste ist das Auftreten eines stationären Zustandes. 25 Tage nach der Impfung fanden wir immer bei gewissen Tieren kleine Geschwülste, »Mohnkörner«, und wir fanden sie noch, ebenso wie Hirsekörner 50 Tage nach der Impfung.

Makroskopisch sind die Verschiedenheiten, welche man im Laufe der ersten Tage durch Betastung feststellen kann, nicht deutlich zu sehen. Wir finden im Zellgewebe unter der Haut die eingeimpften Teilchen, in gewissen Fällen haben sie eine ausgesprochene gelbliche Farbe; diese letzteren Fälle entsprechen zuweilen der Abwesenheit von tastbaren Geschwülsten. Mikroskopisch entsprechen die »Mohnkörner« Gebilden, die viel ausgedehnter als ein Mohnkorn sind und von welchen die Betastung nur einen gewissen Teil entdeckt. Was die Geschwülste »Hirsekorn« anbetrifft, so erkennen wir in den meisten Fällen makroskopisch das Krebsgewebe als in Proliferation begriffen. Die »Mohnkörner« und die stationären »Hirsekörner« zeigen sich als Gebilde, die ein gelbliches Aussehen haben oder eine ganz eigenartige käsige Masse bilden.

Mikroskopisch sehen wir im Laufe des 1. bis 2. Tages nach der Impfung, wie das Krebspartikelchen, das in seiner Gesamtheit die Zeichen von parenchymatöser Entartung und von Nekrose zeigt, von einer Menge von beweglichen Polymorphzellen durchdrungen wird. Vom 3. Tage ab treten zwei neue Erscheinungen in den Vordergrund: Die Polymorphzellen sind in voller fettiger Entartung, während Inselchen und Reihen von lebendigen Krebs-

zellen zahlreiche Mitosen zeigen. In dem benachbarten Zellgewebe kommen lymphozytäre Formen und Mastzellen zum Vorschein. Nachträglich finden wir den bekannten Aufbau des experimentellen alveolaren Krebses wieder, nämlich: eine peripherische Zone von Krebszellen, grofs und gut gegeneinander begrenzt, auf diese folgt eine Reihe von Zellen von lymphoidem Aussehen, darauf die mittleren nekrotischen Teile.

Was am 50. Tage bei der Betastung noch die Form von einfachem »Mohnkorn« oder »Hirsekorn« besitzt, ist nichtsdestoweniger wahres, lebendiges, in Mitose begriffenes Krebsgewebe, aber die Reihe lebendiger Krebszellen ist dünn und an gewissen Stellen ist die Bindegewebskapsel sehr stark entwickelt. Die verhältnismäfsig grofse Ausdehnung des nekrotischen Gewebes erklärt, wie die Teile das Aussehen eines käsigen Kornes und die Gegenwart von Fett, wie sie das Aussehen einer gelblichen Masse besitzen. Wir finden für diese letzten Fälle das benachbarte Bindegewebe reich an Mastzellen, während die Geschwulst selbst noch von Polymorphzellen in fettiger Entartung übersät ist.

Spirilleninfektion.

Wir haben die Infektion mit dem Spirillum Duttoni, dem Parasit des afrikanischen Rekurrensfiebers oder »Tick-fever«, benutzt.

Entwicklung der Krankheit. Erste Wucherung: Nach Levaditi und Manouelian[1]) folgt auf die Einspritzung des Spirillum in das Bauchfell bei der Maus eine reichliche Wucherung dieser Parasiten im Blut. Das Maximum wird am 3. oder 4. Tage erreicht, dann tritt die Krisis ein, ein vollständiges Verschwinden der Parasiten; nachträglich beobachtet man Rückfälle. Koch[2]) studierte als Erster diese Erscheinung genau. Die Schwere der Krankheit, die bei Mäusen oft tödlich ist, hängt zum grofsen Teil von dem Quantum des eingeimpften Giftes ab.

1) Levaditi und Manouelian, Forschungen über die durch den Spirillus des Tick-fever hervorgerufene Infektion. Ann. Pasteur, tome 21, 1907, p. 205.

2) Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1905, 25. Nov.

Bei der Ratte entwickelt sich die spirillische Blutvergiftung schneller als bei der Maus und führt niemals den Tod des Tieres herbei. Levaditi und Manouelian bewiesen durch ihre Forschungen, dafs »der Spirillus des Tick-fever ein Mikroorganismus ist, der ausschliefslich im zirkulierenden Blutstrom wuchert und der niemals in das Zellenprotoplasma dringt«. Die Spirillen teilen sich wahrscheinlich auf dem Wege der transversalen (queren) Teilung.

Krisis: Gabritschewsky[1]), der im Laufe der verschiedenen Phasen der Krankheit die Wirkung der Sera auf die Beweglichkeit der Spirillen studierte, schreibt den spirilliziden Stoffen die Hauptrolle in der Zerstörung der Parasiten zu, während die Meinung Metschnikoffs[2]), dafs die Phagozytose und die innere Zellverdauung Hauptsache ist, von Bardach[3]) und von Cantacuzène[4]) angenommen wird. Levaditi und Manouelian schliefsen sich dieser Meinung an. Neufeld und Prowazek[5]), welche der Phagozytose eine wichtige Rolle in diesem Falle nicht zuschreiben wollen, haben nichtsdestoweniger die Erscheinung festgestellt. Für das »Spirillum Duttoni« insbesondere hoben Koch (a. a. O.), Bertarelli[6]), Levaditi und Manouelian die Einschliefsung des Parasiten in die Phagozyten hervor. Diese letzteren Autoren folgern daraus, »dafs die kritische Zerstörung der Spirillen beim Tick-fever eine hauptsächlich phagozytäre Erscheinung ist und keineswegs von einem direkten Eingreifen der bakteriziden Stoffe abhängt«.

Rückfall: Aus seinen Forschungen mit Roché schliefst Levaditi[7]), dafs die spirillischen Antikörper erst nach der Krisis erscheinen. Sie sind nicht die Ursache der Zerstörung der Spirillen, sondern vielmehr deren Folge. Ihre Gegen-

---

1) Gabritschewsky, Ann. Pasteur 1896 et Ztrbl. f. Bact., Vol. XXVI, 1899, No. 10.

2) Metschnikoff, Virchows Archiv, Bd. 109, 1887, S. 176.

3) Bardach, Ann. Pasteur, vol. XIII, 1899, p. 364.

4) Cantacuzène, Ann. Pasteur, vol. XIII, 1899, p. 529.

5) Neufeld und Prowazek, Arbeit aus dem Kais. Gesundheitsamt, Bd. XXV, Heft 2, 1907, S. 494.

6) Bertarelli, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XVI, 1906, Heft 4.

7) XIV. Kongrefs f. Hyg. u. Dem. Bd. II. Berlin 1908.

wart würde zunächst jede neue Wucherung der Spirillen verhindern; diese letzteren jedoch erwerben eine Immunität gegen sie und alsbald tritt ein Rückfall ein, dem eine neue Krisis folgt. Diese ruft die Bildung neuer Antikörper hervor; diesmal sind diese Antikörper fähig, selbst auf die rückfälligen Spirillen zu wirken.

Experimente: Da wir wünschten, uns persönlich über den Gang der spirillischen Infektion bei der Maus zu unterrichten, haben wir diesbezüglich eine Reihe von Experimenten angestellt.

Benutzter Stamm: Der benutzte Stamm von Tick-fever-Spirillen stammt aus dem Hygienischen Institut von Berlin. Wir verdanken ihn der Bereitwilligkeit von Professor Ficker.

Technik: Unsere Technik gehört zu den einfachsten. Ein Bluttropfen, der nach ganz oberflächlichem Einschnitt aus dem Schwanze des Tieres ausgepreſst wird, wird durch eine Spritze, die physiologisches Wasser enthält, aufgesogen und in die Peritonealhöhle anderer Tiere eingespritzt.

Für die Untersuchung des Blutes wird ein Tropfen, der auf dieselbe Weise gewonnen wird, zwischen Objektträger und Deckglas gepreſst und mikroskopisch untersucht. Die gemachte Wunde wird durch Kauterisation geschlossen. Im Durchschnitt untersuchten wir ungefähr 30 mikroskopische Immersionsfelder für jedes Präparat. Es ist klar, daſs die auf diese Art untersuchte Blutmenge eine ganz geringe ist und daſs die erzielten Angaben keinen absoluten Wert haben, im Gegenteil wohl einen zweifellos relativen.

Mittels dieses Verfahrens haben wir das Verhältnis zwischen der Infizierbarkeit und der infizierenden Kraft des Tierbluts zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Impfung studiert. Wir haben Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten aufs neue geimpft, nachdem wir vorher normale Tiere als Kontrolle mit dem Blute dieser ersten Tiere geimpft hatten; wir haben dann gleichzeitig die Erscheinungen, die sich bei den Wiedergeimpften und bei den mit Blut Geimpften zeigten, beobachtet.

Die Tabelle I a, Ib faſst die erhaltenen Ergebnisse zusammen. Die Zeichen +, ++, +++ bezeichnen die Gegenwart, die Fülle (wenigstens 2—3 Spirillen in einem mikroskop. Imm.-Feld), die groſse Fülle (wenigstens 5—6) von Spirillen im Blut, das Zeichen ++++ ihre Gegenwart in gleich groſser oder gröſserer Zahl als die der roten Blutkörperchen. Das Zeichen * deutet das infektierende Blut für die nächste Serie an, die Zahlen ' die Tiere, welche mit dem Blute des vorhergehenden Tieres geimpft wurden. Der Tod wird mit dem Zeichen — angedeutet.

Diese Tabelle hebt hervor:

1. Wucherung: Die spirillische Blutvergiftung, welche bei der Maus der intra-peritonealen Impfung der Dutton-Spirillen folgt und durch einfache mikroskopische Untersuchung des Blutes erkannt wird, nimmt bei den verschiedenen Tieren ein verschiedenes Aussehen an. Wenn die Impfung mit Keimen der ersten Blutinfektion gemacht wird, zeigt sich die erste Wucherung im Blute nach 2—9 Tagen und kann sich bis zum Tode, der nach einer verhältnismäſsig langen Periode von gemäſsigter Blutvergiftung (9 Tage beim Tier XX) oder nach einer kurzen Periode von höchster Blutvergiftung (3 Tage beim Tier XXIII) eintreten kann, hinziehen. Der Höhepunkt der Wucherung kann zu verschiedenen Zeitpunkten eintreten, am Anfang, in der Mitte oder am Ende der Blutinfektion; er kann sogar zu wiederholten Malen eintreten (wie Versuche auf Tiere I—X, nicht in Tabellen mitgeteilt, uns lehrten) oder ganz ausbleiben. Im letzteren Falle ist seine Erscheinung wahrscheinlich von ziemlich kurzer Dauer und entgeht unserer Beobachtung. Dieser Höhepunkt tritt meist plötzlich ein, ohne daſs eine Steigerung ihn uns ankündigt.

Krisis: Die Krisis kann auch plötzlich nach einem Maximum der Blutinfektion eintreten, kann aber auch der Schluſs eines allmählichen Fallens der Infektion sein.

Rückfall: Von neun der untersuchten Tiere zeigen fünf die Erscheinung des Rückfalles. Dieser erscheint 1—5 Tage nach Ver-

---

Im Laufe dieser Arbeit haben wir bisweilen anstatt »mit Spirillen geimpft« das Wort »spirilliert« gebraucht.

lauf der ersten Blutinfektion und dauert 2—8 Tage. Alle diese Unterschiede in der Infektion zeigen sich, ohne dafs es uns möglich ist, als entscheidender Faktor etwas anderes anführen zu können als die verschiedene Individualität des infizierten Organismus. Bei zwei Tieren, die mit Rezidivspirillen geimpft wurden (Blut vom 6. Tag von Tier XXII) war eine ähnliche Entwicklung zu bemerken wie bei jenen, die durch Spirillen der ersten Blutinfektion infiziert worden waren, sie zeigten ebenfalls einen typischen Rückfall.

Infizierende Kraft: Untersuchungen über Infizierbarkeit und infizierende Kraft wurden 9, 12, 17, 20 und 24 Tage nach der ersten intra-peritonealen Impfung vorgenommen. Die Ergebnisse sind in Tabelle Ib wiedergegeben. Ein Tier (XX) befand sich noch in einem erkennbaren Zustand von Blutinfektion; es verursachte bei dem Kontrolltier, das mit seinem Blute geimpft wurde, bereits am ersten Tage nach der Impfung eine starke spirillische Wucherung.

Alle anderen Tiere befanden sich in einem Stadium, wo die mikroskopische Untersuchung eine negative war.

Die Beobachtungen liefern den klaren Beweis, dafs trotz der Abwesenheit von Spirillen bei der einfachen mikroskopischen Untersuchung der Ansteckungskeim im Blut anwesend war. Breinl und Kinghorn[1]) und nach ihnen Roché und Manouelian (a. a. O.) haben bereits darauf aufmerksam gemacht, dafs man Mäuse durch Impfung mit Blut, in einem Augenblicke von mikroskopisch negativem Befund bei Ratten entnommen, infizieren kann. Levaditi sah, dafs es möglich ist, die Gegenwart dieser seltenen, im Blute bleibenden Spirillen zu beweisen, und zwar durch eine genügende Anzahl von gefärbten Präparaten.

Was aber den Hauptgegenstand dieser Experimente bildet, ist, dafs die beim Kontrolltier erzeugte Ansteckung

1) Breinl und Kinghorn, Liverpool School of tropical med. memoire XXI.

um so weniger ausgesprochen ist, als das blutliefernde Tier sich vom Augenblick der Impfung mehr entfernt befindet, und dafs diese Ansteckung einen typischen Gang nehmen kann, obschon das die ansteckenden Spirillen führende Blut in einem Zeitpunkt nach dem Rückfall entnommen wurde.

Nach der oben angeführten Hypothese von Levaditi verhindert die Gegenwart der nach der Phagozytose abgesonderten Antikörper, dafs eine zweite Wucherung der bleibenden Spirillen der ersten leukozytären Wirkung sofort folgt. Die Spirillen müssen sich zuerst immunisieren, sich in eine neue Art umwandeln, mit neuen Widerstandseigenschaften gegen die Antikörper, Eigenschaften, die sich während einer gewissen Zeit von Geschlecht zu Geschlecht übertragen. Wir können uns dieser Hypothese nicht anschliefsen, da wir sehen, dafs Spirillen, die nach dem Rückfall entnommen wurden, noch eine Infektion mit typischem Verlauf hervorriefen, erste Wucherung, Krisis, scheinbare Abwesenheit der Spirillen, Rückfall (XXI', XVIII', XVII'). Der Facies dieser Infektionen zeigt aufserdem, dafs der Keim viel von seiner Bösartigkeit verloren hat. Und diese letzte Erscheinung zeigt sich in späteren Stadien schärfer. Vom 20. Tage nach der Impfung an ruft die Bluteinspritzung nur noch eine sehr geringe und verspätete Wucherung hervor (XV, XIV und XIII), diese wird noch geringer, wenn man Blut benutzt, das 24 Tage nach der Impfung entnommen wurde (XII). Das Fehlen des Rückfalles ist also in diesem Falle gleichzeitig mit dem Abnehmen der Virulenz verbunden.

Beim Tier XI infiziert die Bluteinspritzung nicht mehr das Kontrolltier, während auf die spirillische Wiederimpfung des zuerst infizierten Tieres sich eine typische Blutvergiftung zeigt. Hier zeigen uns die vergleichenden Ergebnisse über infizierende Kraft und Infizierbarkeit des Blutes, dafs der erste infizierende Vorgang beim Tier XI beendet war. Das Blut hatte keine infizierende Kraft mehr und wurde auf normale Weise infiziert.

Das Tier (Maus) verliert also seinen Widerstand gegen die Infektion bald nach Beendigung der Infektion selbst.

Infizierbarkeit: Wenn wir jetzt die Angaben über die Infizierbarkeit betrachten, so sehen wir, dafs unter den spirillisch wieder infizierten Tieren 9, 12 und 17 Tage nach der ersten Impfung (XXI, XX, XIX, XVIII, XVII, XVI) ein einziges (XIX) durch die neue Infizierung beeinflufst scheint. Für das Tier XX ist der Einflufs sehr zweifelhaft. Bei den Tieren XVIII, XVII, XVI war es nicht möglich, nachträglich im Blute Spirillen zu entdecken; die Ergebnisse über infizierende Kraft zeigen, dafs das Blut dieser Tiere noch ziemlich virulente Keime enthielt. Diese unterhielten wahrscheinlich von seiten des Organismus eine Reaktion, die fähig war, jede wahrnehmbare Blutwucherung der neuen eingespritzten Spirillen zu hemmen. Im Gegenteil, sobald die infizierende Kraft auf eine einzige verspätete Erscheinung von Spirillen sinkt (XV, XIV, XII), steigt die wahrnehmbare Infizierbarkeit von 0 auf eine verspätete Erscheinung von Spirillen, um bis zur normalen Infektion zu steigen im Augenblick, wo die infizierende Kraft auf 0 sinkt (XI).

Beim Tier XIII, bei dem sich die infizierende Kraft des Blutes allerdings durch eine einzige und verspätete, aber aufsergewöhnlich lange Infektion zu erkennen gab, war die Infizierbarkeit gleich 0.

Die Gesamtheit der beobachteten Erscheinungen mit ihren zwei entgegengesetzten Intensitätskurven pafst sehr gut mit der Erklärung, die wir eben gegeben haben und scheint genau zu zeigen, dafs wir es mit Verschiedenheiten in der Infizierbarkeit und nicht mit zufälligen Rückfällen der ersten Infektion zu tun haben.

Die Tatsache, dafs gewisse spirillische Wucherungen auf die Wiederimpfung gewisser Tiere (XV, XIV, XII) nach so langer Zeit folgen, kann nicht davon abhängen, dafs die eingespritzten Spirillen sich zuerst gegen die Antikörper, die dem Mechanismus des Rückfalles vorstehen, immunisieren, denn die weitere Impfung dieser Spirillen (am 31. Tag beim Tier XIV entnommen) führte eine neue Rückfallinfektion herbei.

Uns auf die Gesamtheit der erhaltenen Ergebnisse stützend, stellen wir uns ganz allgemein den Mechanismus der spirillischen Wucherung, der Krisis und des Rückfalles, als eine Blutinfektion vor, welche eine Gegenwirkung des Organismus hervorruft; diese schwächt sich ab, nachdem die reiche spirillische Wucherung bekämpft ist, so dafs eine neue, aber geringere Wucherung möglich wird. Diese letztere bewirkt von neuem eine Verstärkung der organischen Gegenwirkung, die die zweite Krisis herbeiführt. Da die bleibenden Spirillen viel von ihrer Virulenz verloren haben (vgl. infizierende Kraft), werden sie in der Folge von einer schwächeren organischen Gegenwirkuug zerstört (vgl. Infizierbarkeit), ohne dafs, wenigstens in den meisten Fällen, eine neue Wucherung entsteht, die durch die einfache Blutuntersuchung erkennbar sei. Wir glaubten, dafs die neuen erhaltenen Angaben uns für die Forschungen, mit denen wir uns jetzt beschäftigen, genügten und uns erlaubten, das Studium der kombinierten Karzinom- oder Trypanosomeninfektion zu beginnen. Dabei behalten wir uns vor, im Laufe dieses zweiten Studiums die diesen ersten Ergebnissen entgegenstehenden oder bestätigenden Tatsachen zu erforschen.

Trypanosomeninfektion.

Wir haben die Infektion mit Nagana-Trypanosomen benutzt. Das wichtigste morphologische und biologische Studium dieses durch Bruce[1]) entdeckten Protozoons wurde von Laveran und Mesnil[2]) geliefert.

Technik: Unsere Impfungs- und Untersuchungstechnik war dieselbe wie für die Infektion mit Dutton-Spirillen.

Entwicklung: Die naganische Infektion ist für die Maus eine Blutinfektion mit regelmäfsig fortschreitendem, immer nach wenigen Tagen tödlichem Verlauf.

1) Bruce, Preliminary report on the Tsetse Fly disease or Nagana in Zululand. Dec. 1895, analysiert von Duclaux in den Ann. Past. Oct. 1896, p. 189.

2) Laveran et Mesnil, Rech. morph. et exper. sur le Trypanosome du Nagana. Ann. Pasteur, Janvier 1902. — Recherches sur le traitement et la prévention du Nagana. Ann. Pasteur, 1902 Nov.

Weil wir in den früher beschriebenen experimentellen Karzinom-, Spirillen- und Trypanosomeninfektionen krankhafte Vorgänge von bestimmter Entwicklung besafsen, haben wir die Änderungen, die im Verlauf dieser verschiedenen Infektionen durch ihre gleichzeitige Entwicklung bei demselben Tier hervorgerufen werden, erforscht.

Kombinierte Karzinom- und Spirilleninfektion.

Einflufs der Karzinominfektion auf die Spirilleninfektion.

Im Laufe unserer zahlreichen Experimente auf diesem Gebiete hat sich keine deutliche Wirkung hervorgetan.

Bei gewissen Mäusen mit Geschwülsten von der Gröfse einer Bohne oder noch mehr scheint die spirillische Infektion schneller auf die intraperitoneale Impfung zu folgen als bei den Kontrolltieren, aber der Unterschied beträgt höchstens einen Tag. Anderseits zeigten Mäuse, die wiederholten Karzinomimpfungen widerstanden hatten, eine spirillische Infektion, die der der Kontrolltiere ganz gleich war.

Einflufs der Spirilleninfektion auf die Karzinominfektion.

Zum Zweck dieses Studiums erforschten wir das Resultat der Karzinomimpfung, die bei Mäusen in verschiedenen Stadien der spirillischen Infektion vorgenommen wurde.

Versuch I.

2 Tiere wurden am 29. Tage, 2 am 25., 5 am 15. und 3 am 5. Tage nach der Spirillenimpfung mit Karzinom geimpft.

Resultate:

Wenn wir am 6. Tage die Prozentsätze ausrechnen, dabei ein Tier mit offener Wunde beiseite lassen und ein zweifelhaftes gleichfalls fallen lassen, so wären die Ziffern:

auf 3 normale Tiere 3 wahrnehmbare Geschwülste . . 100 %
auf 12 spirillierte Tiere 3 wahrnehmbare Geschwülste . 25 %

Nach 20 Tagen:

Von 4 normalen Mäusen zeigen 4 eine wahrnehmbare Geschwulst, also 100 %.

Von 11 früher spirillierten Mäusen zeigen 2 eine wahrnehmbare Geschwulst (Hirsekorn), also 18 %.

3 von den Kontrolltieren zeigen allerdings nur Mohnkorngeschwülste, aber das Fortbestehen dieser geringen Geschwülste zeigt nichtsdestoweniger einen geringeren Widerstand gegen die Karzinominfektion.

Die Serie mufste in diesem Augenblick unterbrochen werden, weil wir gezwungen waren, gewisse Tiere zu benutzen, um unseren Trypanosomenstamm zu bewahren. 4 Tiere wurden nachträglich noch einmal mit Karzinom geimpft. Wir werden später darauf zurückkommen.

Diese erste Serie von Experimenten schien das Dasein eines Antagonismus zwischen den beiden Karzinom- und Spirilleninfektionen anzugeben und veranlafste uns, weiter zu experimentieren.

Wir haben dann bei einer grofsen Serie von normalen Tieren und bei zwei Serien Tiere, von denen die einen mit einem sehr wenig virulenten Spirillenstamm infiziert wurden und die anderen nach einer 12—25 Tage vorhergehenden Infektion noch einmal am Tage vor der Karzinomimpfung spirilliert wurden, Versuche angestellt.

Versuch II.

50 normale Mäuse und 16 früher mit Spirillen infizierte wurden mit Karzinom geimpft.

Von den mit Spirillen infizierten waren 9 12—25 Tage vor der Impfung spirilliert und am Tage vorher wieder spirilliert worden.

7 waren zum erstenmal am Tage vor der Impfung mit einem wenig bösartigen Keim spirilliert (viermal erschienen die Spirillen nach dem 10. Tag).

Nach 12 Tagen gaben die früher spirillierten und zum zweitenmal wieder spirillierten Mäuse . . 33 % von wahrnehmbaren Geschwülsten
die zum erstenmal spirillierten 60 » » » »
die normalen Tiere . . . . . 90 » » » »

Nach 24 Tagen: Von den normalen war 1 Mause »Hirsekorn« gestorben, die 3 besten Geschwülste »Hirsekorn« waren zu weiteren Impfungen benutzt worden. 2 spirillierte waren gestorben; 1 Maus, »Mohnkorn«-Geschwulst und 1 ohne Geschwulst. In betreff eines Nachweises eines Antagonismus waren die Bedingungen durch den Verlust dieser Tiere schlechter geworden.

Die 14 Spirillierten zerteilten sich:

Zum erstenmal spirilliert 7:	Geschwulst	»Erbse«	2
	»	»Hirse«	3
	»	»Mohn«	0
		0	2

Zum zweitenmal spirilliert 7:	Geschwulst ›Erbse›	1
	› ›Hirse‹	2
	› ›Mohn‹	2
	0	2
Die Normalen:	Geschwulst ›Erbse‹	14
	› ›Hirsekorn‹	27
	› ›Mohnkorn‹	7
	0	2

Nach 42 Tagen: Unter den Normalen war 1 Maus ›Hirse‹ und 1 Maus ›Mohn‹ gestorben.

Die Spirillierten zerteilten sich:

Zum erstenmal spirilliert 7:	Geschwulst ›Erbse‹	4
	› ›Hirse‹	1
	0	2
Zum zweitenmal spirilliert 7:	Geschwulst ›Erbse‹	2
	› ›Hirse‹	1
	0	4
Normale:	Geschwulst über Erbsengröfse	2
	›Erbse‹	14
	›Hirsekorn‹	21
	›Mohnkorn‹	5
	0	6

Wenn wir nur die letzteren Ziffern berücksichtigen, so würde der Vergleich mit den Normalen folgendes Resultat ergeben:

	Normale	Spirillierte
Geschwulst ›mehr als Erbse‹	4 %	0
› ›Erbse‹	29 %	28,5 %
› ›Hirse‹	43 %	14,2 %
›Mohn‹	10 %	0
0	12 %	57,3 %

Der Unterschied zwischen normalen und spirillierten Mäusen erscheint uns in unwiderlegbarer Weise. Ein Unterschied zwischen den zwei Gruppen von Spirillierten ist auch angedeutet.

Ein drittes Experiment betraf nur einige Tiere.

Als allgemeine Schlufsfolgerung geht aus diesen drei Reihen von Versuchen hervor, dafs ein bestimmter Antagonismus zwischen den karzinomatösen und spirillischen Infektionsvorgängen besteht.

Die Spirilleninfektion schützt gewissermafsen gegen die Karzinominfektion. Besonders die Tiere, die 9—25 Tage vor der Krebsimpfung mit Spirillen

geimpft worden sind, zeigen diese Erscheinung, viel weniger diejenigen, die 4 Tage vorher oder gleichzeitig mit Spirillen infiziert worden sind.

Wenn wir eine Zusammenfassung unserer Beobachtungen am 20. Tage der Krebsimpfung aufstellen, so erhalten wir folgendes:

63 Normale Tiere.			
Geschwulst	›kleine Kirsche‹ .	1	1,6 %
›	›Erbse‹	17	27,2 %
›	›Hirsekorn‹ . . .	33	52,2 %
›	›Mohnkorn‹ . . .	10	15,7 %
	0 . . .	2	3,1 %
12 Tiere zu gleicher Zeit, 1 und 4 Tage vorher mit Spirillen infiziert.			
Geschwulst	›Erbse‹	2	17 %
›	›Hirsekorn‹ . . .	6	50 %
›	›Mohnkorn‹ . . .	1	8 %
	0 . . .	3	24,9 %
19 Tiere 9—25 Tage vorher mit Spirillen infiziert.			
Geschwulst	›Erbse‹	1	4,6 %
›	›Hirsekorn‹ . . .	3	15,9 %
	0 . . .	12	63,6 %

Eine Frage, die aufstieg, war folgende: Dauert dieser Widerstand weit über die spirillische Infektion hinaus? Unsere Experimente haben uns gezeigt, dafs ungefähr 20—30 Tage nach der Spirillenimpfung die Blutinfektion bei der Maus beendet ist. Wir haben zu späteren Zeitpunkten spirillierte Mäuse, die dem Krebs widerstanden hatten, wieder zu Versuchszwecken benutzt.

Die 6 Refraktären von Versuch II sind 8 Tage nach Beendigung des Experimentes, also ungefähr 50 Tage nach der letzten Spirilleneinspritzung, aufs neue mit Krebs geimpft worden. Eine ist im Laufe des Experiments gestorben. Die 5 übrigbleibenden haben am 15. Tag nach der Krebsimpfung folgende Ergebnisse geliefert:

5 früher refraktäre Mäuse			5 Kontrolltiere	
Geschwulst	›Erbse‹	0	›Erbse‹	1
›	›Hirse‹	1	›Hirse‹	1
›	›Mohn‹	1	›Mohn‹	0
	0	3	0	3

4 Refraktäre vom Versuch I sind auch aufs neue geimpft worden, 3 ungefähr 40 Tage nach der letzten spirillischen Impfung; 15 Tage nach der Krebsimpfung haben sie uns folgende Ergebnisse geliefert:

4 früher refraktäre Mäuse		4 Prüfungstiere	
Geschwulst »Erbse«	0	»Erbse«	0
» »Hirse«	2	»Hirse«	1
» »Mohn«	1	»Mohn«	2
0	1	0	1

Obwohl die Zahl der benutzten Tiere sehr gering war, scheint uns die Antwort auf den Versuch deutlich.

Der besondere Widerstand gegenüber der Krebsinfektion trifft ungefähr zusammen mit dem Zustand der spirillischen Blutinfektion.

Das Nichtangehen der eingeimpften Krebspartikelchen hat also bei gewissen von unseren Mäusen gegen eine spätere Krebsinfektion nicht geschützt.

Weil ein besonderer Widerstand in hohem Maſse bei den Tieren besteht, die seit 9—25 Tagen spirilliert worden sind, viel weniger bei denen, die 4 Tage vorher, 1 Tag vorher oder gleichzeitig spirilliert wurden, so können wir folgern, indem wir uns auf die Forschungen von Manouelian und Roché (a. a. O.) stützen, daſs der Widerstand gegen Krebsinfektion, der bei spirillierten Tieren beobachtet worden ist, besonders stark ist im Augenblick der Gegenwart von spirillischen Antikörpern im Blute und von Phagozyten, die die Spirilleninfektion schon bekämpft haben.

Kombinierte Karzinom- und Trypanosomeninfektion.

Die Trypanosomeninfektion entwickelt sich bei der Maus zu schnell (3—5 Tage), um eine Wirkung auf das Resultat der Krebsinfektion studieren zu können.

Bei Mäusen, welche die verschiedensten Entwicklungen der Krebsgeschwülste zeigen, entwickelt sich die trypanosomische Infektion in normaler Weise. Nur in gewissen Fällen von be-

sonders ausgedehnter Geschwulst bei kachektischen sterbenden Tieren haben wir eine bedeutende Verspätung in der Infektion bemerkt und selbst eine mehrtägige Abwesenheit der Trypanosomen in dem Blut der mit Krebs behafteten Tiere, während das Kontrolltier inzwischen der Trypanosomiase schon erlegen war.

Kombinierte Spirillen- und Trypanosomeninfektion.

Das Studium der kombinierten Infektion durch Duttonspirillen und Trypanosomen wurde bisher nur von Trautmann (a. a. O.) im Laboratorium des Herrn Mesnil im Institut Pasteur geleitet.

Trautmann hat hauptsächlich die Wirkung, welche die spirillische Blutvergiftung auf die Infektion mit Nagana-Trypanosomen bei der Maus ausübt, studiert, dies, weil diese letztere Infektion bei der Maus einen schnellen, sicheren und tödlichen Verlauf hat.

Trautmann fafst die Schlufsfolgerungen seiner Arbeit auf folgende Weise zusammen:

1. Die gemeinsame Infektion mit Spirillen und Trypanosomen ändert den Gang der zwei einfachen Infektionen.
2. Im allgemeinen treten jedesmal, wenn die Spirillen wieder erscheinen, die Trypanosomen bei den widerstandsfähigen Tieren zurück.
3. Dieses periodische Zurücktreten der Trypanosomen hat ein bedeutendes Überleben der infizierten Tiere zur Folge.
4. Die gemischte Infektion verursacht zu ganz besonders entfernten Zeitpunkten neue spirillische Infektionen.
5. Das Überleben kann nicht in einer Verminderung der Bösartigkeit der Trypanosomen gesucht werden.
6. Die Wirkung der lösbaren Produkte, die von den lebenden Spirillen herrühren, könnte vielleicht teilweise das verspätete Eintreten des Todes durch Trypanosomiase erklären, denn diese Trypanosomen zeigen einen gewissen Zustand von Immunität gegen neue Spirillen.
7. Die lösbaren Produkte von toten Spirillen haben keinerlei Wirkung auf die Trypanosomen.
8. Von grofser Bedeutung ist die Art und Weise, wie die beiden Impfungen vorgenommen werden; es scheint, dafs die Spirillenimpfung im Bauchfell, 1 Tag nach der mit Trypanosomen unter der Haut vorgenommenen, die besten Resultate für den Nagana liefert.

Die drei grofsen Tatsachen, welche dieses Studium hervorhebt, sind u. E. folgende:

1. Die Spirilleninfektion hat eine deutliche Wirkung auf den Gang der Trypanosomeninfektion. Trypanosomen und Spirillen machen sich eine Art »Lebenskonkurrenz«.
2. Die Art, in der die Impfungen vorgenommen werden, ist von grofser Wichtigkeit.
3. Die Trypanosomen gewinnen gegen die lösbaren Stoffe, durch welche die lebenden Spirillen fähig sind, sie zu beeinflussen, eine Immunität, welche nach mehreren Passagen auf die Maus weiterbesteht. Diese Immunität ist aber nicht beständig.

Der Verfasser scheint dieser Immunität die schliefsliche Obergewalt der Trypanosomen und den Tod der Tiere zuzuschreiben.

Besonders dieser letzte Satz rief das Interesse wach, nach den bemerkenswerten Resultaten, die auf diesem Gebiete der Gewöhnung der Trypanosomen von Mesnil et Nicolle, Ehrlich, Brimont etc.[1]) erzielt worden sind.

Die Experimente des Verfassers schienen uns ganz ungenügend, um ihm zu gestatten, die allgemeinen Schlüsse zu ziehen:

»2. Bei den zuerst mit Spirillen und dann mit Trypanosomen geimpften Mäusen wird kein Rückgang der Trypanosomen festgestellt; es tritt blofs eine leichte Verzögerung im Absterben der Tiere ein.«

Auch die dritte vom Verfasser behauptete Tatsache bezüglich der Immunität der Trypanosomen bedarf der Bestätigung, besonders nachdem im Laufe aller Impfungen mit pseudo-vaccinierten Trypanosomen diese in auffallend reicher Weise gewuchert hatten, am 4. Tage immer wenigstens der Hälfte der Zahl der roten Körperchen gleich waren, während im Laufe der früheren Experimente zu diesem Zeitpunkte höchstens ein oder zwei Try-

1) Literatur, Erörterung und Darlegung der letzten Angaben in: Mesni et Brimont, Ann. Past. Nov. 1908.

panosomen in einem Gesichtsfelde waren. Selbst wenn die Wirkung der Spirillen auf diese Trypanosomen noch bestanden hätte, so wäre es ihnen unmöglich gewesen, diese Wirkung zum Ausdruck zu bringen (wie es die früher erhaltenen Ergebnisse des Verfassers beweisen).

Persönliche Experimente: Um nach Möglichkeit die individuellen Verschiedenheiten im Laufe der Infektion zu beseitigen, haben wir nur die Impfung, die am schnellsten die Infektion herbeiführt, die intraperitoneale Einspritzung der Spirillen und der Trypanosomen, benutzt. Um die günstigste Impfungskombination zu erforschen wie auch um uns über den gegenseitigen Wirkungsmechanismus der spirillischen und der trypanosomischen Infektion zu belehren, haben wir vier Serien von Versuchen angestellt.

1. Versuchsreihe (Tabelle II).

Blofs die vor 2 Tagen intraperitoneal mit Spirillen geimpften Tiere ergaben Besonderes.

Die trypanosomische Infektion nimmt anfangs einen leicht steigenden Gang, um bald zurückzugehen. Dieser Rückgang kann mit dem Verschwinden der Spirillen zusammentreffen (I, VI), ebenso wie mit einer wachsenden spirillischen Blutvergiftung. Es folgen darauf einige Tage, wo die Spirillen allein vorhanden sind, 2 oder 3 Tage von gleichzeitiger Abwesenheit von Spirillen und Trypanosomen (auf viermal, dreimal nach dem spirillischen Rückgang), dann erhalten die Trypanosomen plötzlich die Überhand und töten das Tier am 17. Tage. Das ist ein Zeitpunkt, wo, laut Angaben unserer früheren Experimente, der spirillische Keim viel von seiner Bösartigkeit eingebüfst hat und die entsprechende Reaktion des Organismus sehr geschwächt ist.

Schlufsfolgerung.

Die Verbindung der trypanosomischen und der spirillischen Infektion kann den Ergebnissen Trautmanns gemäfs auf wunderbare Weise mit Try-

panosomen infizierte Tiere gegen den schnellen Tod durch Trypanosomiase schützen.

Es ist nicht unbedingt notwendig, dafs die trypanosomische Impfung der spirillischen Impfung vorangeht (contra Trautmann).

2. Versuchsreihe (Tabelle III).

Am 15., 19., 22. Tage haben wir die überlebenden Tiere aufs neue mit Spirillen infiziert. Es ist darauf weder eine neue spirillische Infektion noch ein Rückgang im Laufe der Trypanosomiase eingetreten.[1]) Dieses Resultat stimmt vollständig mit unseren Angaben über die spirillische Infektion überein. Die Spirillenimpfung an den früher aufgegebenen Tagen konnte kaum oder nur an zu entfernten Zeitpunkten, um nützlich zu sein, eine Spirillenwucherung hervorrufen, so dafs der Entwicklung der spirillischen Infektion gemäfs diese Wiederimpfungen keine Wirkung auf die Trypanosomiase haben konnten.

Ein Einflufs von der kombinierten Infektion auf den Gang der Spirilleninfektion kommt in dieser Serie von Experimenten nicht in klarer Weise zum Ausdruck.

Schlufsfolgerungen.

1. Chronologisch erscheint als die günstigste Verbindung der spirillischen und trypanosomischen Infektionen das Zusammentreffen der intra peritonealen trypanosomischen Impfung mit der Mitte der Spirilleninfektion. Eine andere Art der Wirkung ist die, bei welcher die trypanosomische Impfung dem Schlufs der spirillischen Infektion entspricht, die Trypanosomiase in ihrer Entwicklung einfach verspätet wird und nachträglich der Wirkung eines spirillischen Rückfalls unterliegt.

---

1) Der Rückgang beim Tier IV am 17. Tage ist zweifellos unabhängig von der erneuerten Spirillenimpfung; die nachträglichen Versuche zeigen ähnliches Nachlassen ohne jede neue Impfung.

2. Es kann kein lösbarer Stoff sein, der von Spirillen ausgeschieden wird, der direkt den Stillstand der Entwicklung der Trypanosomen verursacht, weil diese letzteren in mit Spirillen gefülltes Blut dringen und sich darin vermehren können (contra Trautmann).

Die Reaktion des Organismus gegen die Spirillen scheint wirklich in diesem Fall das wichtige zu sein. Wir wollen darauf aufmerksam machen, dafs die Entwicklung der Trypanosomen beim Tier IV deutlich zusammentrifft mit den gewöhnlichen Zeitpunkten der spirillischen Rückfälle.

3. In den Fällen, wo es dem Organismus nicht gelingt, die Entwicklung der Trypanosomen zu hindern, gelingt es ihm noch zuweilen in gewissem Mafse, einen anderen unbekannten krankhaften Einflufs zu bekämpfen. Die einfach trypanosomierte Maus, deren Blut mit Parasiten gefüllt ist, stirbt immer im Zeitraum von ungefähr 24 Stunden; in der kombinierten Infektion sehen wir, wie Tiere, deren Blut mit Trypanosomen gefüllt ist, mehr als 3 Tage widerstehen. Diese Tatsache wurde schon von Trautmann bemerkt.

4. Die Tiere, die einen Rückgang der Trypanosomiase gezeigt haben, erliegen endgültig der Trypanosomiase in einem Augenblick, wo, nach unseren früheren Ergebnissen, die Spirilleninfektion ihrem Ende nahe ist (V, VII) oder aller Wahrscheinlichkeit nach schon beendet ist (IV, VIII).

Neben die Erklärung der Gewöhnung der Trypanosomen an den schädlichen Einflufs der Spirilleninfektion als Ursache der endgültigen Wucherung der Trypanosomen (Trautmann) stellt sich die der Beendigung der spirillischen Infektion, welche die Aufhebung der schädlichen Wirkung selbst nach sich zieht.

5. Die methodisch erneuerte Spirillenimpfung der Tiere führt keinen neuen Rückgang der Trypanosomen herbei. Unsere früheren Ergebnisse erklären diese Erscheinung.

3. Versuchsreihe (Tabelle IV).

Hier haben wir die Wirkung von spirillischen Impfungen, die 2, 3, 5, 6, 7 und 9[1]) Tage vor der Trypanosomenimpfung gemacht wurden, erforscht.

Die Unterschiede in der spirillischen Infektion, die individuell und serienweise vorkamen, bildeten die Ursache der Unregelmäſsigkeit der beobachteten Erscheinungen.

Wir fanden bei gewissen Tieren Trypanosomiasen mit verspäteter Entwicklung und mit teilweisem Nachlassen. Bei den meisten hielt der Zustand des »mit Trypanosomen angefüllten Blutes« mehrere Tage an, bevor der Tod eintrat. Wir beobachteten anderseits bei einem Tier die Vermehrung der Trypanosomen in einem mit Spirillen überfüllten Blute; die besonders ausgesprochene Ausbreitung der spirillischen Infektion zeigte uns, daſs das Tier wahrscheinlich der Spirillosis erlegen war. Es scheint, daſs in diesem Fall die Trypanosomeninfektion dank der Abwesenheit einer genügend starken antispirillischen Reaktion ihren normalen Gang hat befolgen können. Diese verschiedenen Beobachtungen bestätigten Tatsachen, die bereits hervorgehoben worden sind. Bei zwei Tieren erschien ein vollständiges zeitweiliges Nachlassen der spirillischen und trypanosomischen Infektion. Beim einen Tier hat sich dieses Nachlassen noch gezeigt, obschon die Trypanosomenimpfung 9 Tage nach der spirillischen Impfung stattgefunden hat. Sie wurde auf ganz besondere Art durch eine äuſserst verspätete (6 Tage) und langanhaltende (11 Tage) spirillische Infektion verursacht.

Was das schlieſsliche Vorherrschen der trypanosomischen Infektion anbelangt, so decken sich die Erscheinungen und die Hypothesen, denen sie Veranlassung geben, mit demjenigen das bereits früher beobachtet und gesagt worden ist.

Um tiefer in die Analyse der Resultate einzudringen, haben wir folgenden Versuch angestellt.

---

1) Der spirillische Keim hat die 4 und 8 Tage vorher geimpften Tiere getötet.

Tabelle IV.

Um der Ursache der Wucherungen und des definitiven Überhandnehmens der Trypanosomen am Ende der kombinierten Infektion näher zu kommen, haben wir mit dem Blute, das wir zwei Tieren des vorigen Versuchs (II u. XII) am Anfang und am Ende der letzten Trypanosomenwucherung entnahmen, normale Mäuse geimpft.

Tabelle IV gibt die erzielten Resultate an.

Schlufsfolgerungen.

Im Anfange der schliefslichen trypanosomischen Wucherung enthält das Blut der Tiere Spirillen und Trypanosomen. Diese Trypanosomen sind empfindlich gegen eine bei einem andern Tiere (3) in Entwicklung stehenden spirillischen Infektion. Sie sind es auch gegen die geschwächte spirillische Infektion (1), welche die Impfung mit diesem Blute selbst bei einem normalen Tier herbeiführt. Diese Infektion kann so geschwächt sein, dafs sie unserer Beobachtung entgeht (2). Dieselbe Erscheinung wiederholt sich noch bei einer zweiten Impfung mit dem Blute dieses zweiten Tieres (3). Gegen Ende der endgültigen trypanosomischen Wucherung scheint das Blut nur noch Trypanosomen zu enthalten. Diese sind gegen den Einflufs der spirillischen Infektion immer sehr empfindlich.

2. Es gibt also keine Gewöhnung der Trypanosomen an die schädliche Wirkung, welche die spirillische Infektion ausübt (contra Trautmann).

3. Die schliefsliche Vorherrschaft der trypanosomischen Wucherung läfst als Ursache das Sinken und das Ende der spirillischen Infektion erkennen.

4. Versuchsreihe (Tabelle V).

Die vorhergehenden Beobachtungen hatten uns zur Bestätigung neuer Ergebnisse geführt. Das Studium haben wir in einer neuen Versuchsreihe verfolgt. Da wir beobachtet hatten, dafs wir in gewissen Fällen, wo die trypanosomische Impfung

der Spirillenimpfung nach 7 oder 9 Tagen folgte, noch eine Verlangsamung in der Entwicklung der Trypanosomiasis erzielten, so haben wir, um gleichzeitig die Forschung in dieser Richtung weiter zu verfolgen und um unsere früheren Angaben zu prüfen, Tiere am 35., 30., 28., 17., 13. 3. Tage und 1 Stunde nach der spirillischen Impfung mit Trypanosomen geimpft und haben zugleich einige am 1. Tage nach der Trypanosomenimpfung spirilliert.

Im allgemeinen kann sich — in unseren Experimentbedingungen — der Einflufs der spirillischen Infektion auf die Entwicklung der Trypanosomiase nur insoweit zeigen, als sich die Trypanosomenentwicklung ungefähr von dem 10. Tag ab nach der spirillischen Impfung vollzieht.

Aus der Gesamtheit unserer Experimente bis zum Punkte, bis zu dem sie geführt wurden, können wir keineswegs schliefsen, dafs die Trypanosomen sich in der kombinierten Infektion jedesmal zurückziehen, wenn die Spirillen wieder erscheinen (Trautmann), im Gegenteil bemerken wir neben komplizierten Entwicklungen eine Anzahl von Fällen, wo die Entwicklung der zwei Keime manchmal genau zusammentrifft. (Z. B. beim Tier IX). Die Wucherung der Trypanosomen scheint durch die Schwächung der organischen Reaktion gegen die Spirillen, eine Schwächung, welche ebenfalls die neue Wucherung der Spirillen gestattet, möglich zu sein.

Versuch X.

Die am 15. Tage mit dem Blut des Tieres XI (s. vorigen Versuch) vorgenommenen Impfungen zeigten uns, dafs gleich nach der spirillischen Krisis, sowohl Trypanosomen als Spirillen noch im Blute vorhanden waren; wahrscheinlich aber in geringerer Anzahl und geringerer Virulenz. Ein Tier erlag am 9. Tage der Trypanosomiase, ohne dafs wir Spirillen entdecken konnten. Die verspätete Entwicklung dieser Trypanosomiase schien jedoch die Gegenwart der Spirillen anzuzeigen.

Die Impfung mit Blut vom 21. Tag, dem Zeitpunkt, an welchem sich das Tier in der Mitte der letzten trypanosomischen Wucherung befindet, rief beim Kontrolltier nur eine Trypanosomiase mit langsamer, aber typischer Entwicklung hervor, während beim spirillierten Tier, das am 3. Tage darauf an der Spirillosis starb, die Trypanosomen am 2. Tage in die Blutflüssigkeit, die mit Spirillen gefüllt war, gedrungen waren; den Beweis dafür lieferte uns das Resultat der Impfung mit seinem Blute bei normalen Tieren. Vier Tiere zeigten eine kombinierte Infektion mit Rückgängen.

Besonders mittels Impfungen, die zu vergleichbaren Zeitpunkten wiederholt wurden, haben wir die Eigentümlichkeiten der Entwicklung der kombinierten Infektion studiert, indem wir als Ausgangspunkt die kombinierte Infektion des Tieres IX nahmen.

Versuch XI (Tabelle VI).

Die Impfung mit dem Blute des 14. Tages (letzten Tages der zweiten Trypanosomen- und dritten Spirillenentwicklung) bei Tieren, die seit 4 und 6 Tagen (3, 4, 5, 6, 7) spirilliert sind, führt höchstens eine Verspätung in der Entwicklung der Trypanosomiase herbei.

Im Gegenteil führt diese Impfung, wenn sie bei normalen Tieren ausgeführt wird (1, 2), eine doppelte Infektion mit Rückgängen herbei. Eine ähnliche Erscheinung tritt zutage bei der Weiterimpfung mit Blut des Tieres 1.

Die Resultate der Impfungen 10, 11, 12 und 13 lehren uns die Abwesenheit oder die aufserordentlich geschwächte Virulenz der Spirillen. Trotzdem zeigte das Tier 8 typische Rückgänge in der Trypanosomiase.

Die gleichzeitige Impfung mit Spirillen und Trypanosomen, die bereits bei einem Tiere kombiniert wucherten, führt eine kombinierte Infektion mit Rückgängen herbei.

Die gleichzeitige Impfung von gewöhnlichen Spirillen und Trypanosomen führte niemals ein ähnliches Resultat herbei.

Versuch XII (Tabelle VII).

Schlufsfolgerungen.

Obgleich die Bösartigkeit der Trypanosomen sich wenigstens auf derselben Höhe erhalten zu haben scheint, führt ihre gleichzeitige Impfung mit Spirillen, sobald dies durch Einspritzung von Blut geschieht, das man im Laufe von kombinierten Infektionen mit Krisen entnimmt, ebenfalls eine gemischte Infektion mit Rückgängen herbei.

Im Laufe der wiederholten Impfungen mit in Augenblicken von Stillstand der kombinierten Wucherungen entnommenem Blute beschränkt sich schliefslich die anfängliche trypanosomische Wucherung auf einige Tage, und die Trypanosomen können im Laufe der Ruhestandsperiode, die eine aufserordentlich lange Dauer erreichen, aus dem Blute verschwinden oder so selten werden, dafs die entferntere Impfung negativ bleibt. Die Gesamtheit der gesammelten Ergebnisse zeigt uns klar, dafs die Trypanosomen, anstatt sich an den schädlichen Einflufs, den die spirillische Infektion mit sich bringt zu gewöhnen (Trautmann), gegen ihn empfindlicher werden, dafs sie statt der Gewöhnung eine allergische Eigenschaft gegenüber der Wirkung, die die spirillische Infektion ausübt, annehmen.

Fast zu denselben Zeitpunkten, die verschieden sind wegen der Schwankungen der spirillischen Infektion, tritt die definitive trypanosomische Wucherung ein. Wenn sie früh eintritt, entwickelt sie sich sehr langsam; wenn sie sehr spät eintritt, entwickelt sie sich sehr schnell. Diese letzten Tatsachen erklären sich sehr leicht, da es, nach unseren früheren Angaben, die Schwächung der spirillischen Infektion ist, die eine neue trypanosomische Wucherung gestattet, und dafs ihr Verschwinden die tötliche Entwicklung zuläfst. Die spirillische Infektion zeigt immer, trotz einiger individueller Abweichungen, denselben allgemeinen Typus. Bisweilen gibt sie zwar,

wie schon von Trautmann bemerkt, zu einem ausgesprochenen schönen zweiten Rückfall Anlafs. Es soll noch bemerkt werden, dafs zu wiederholten Malen die Impfung mit Spirillenkeimen, die zu späteren Zeitpunkten nach dem Rückfall entnommen wurden, eine typische Infektion wieder hervorrief.

Versuch XIII (Tabelle VIII).

Schlufsfolgerungen.

Wenn man aufeinanderfolgende Weiterimpfungen vornimmt mittels Trypanosomen, die in einem Augenblick von starker Wucherung genommen wurden, zeigt sich eine stärkere Bösartigkeit der Keime im Laufe der kombinierten Infektion, aber die Trypanosomen sind nichtsdestoweniger gegen den schädlichen Einflufs der Spirilleninfektion empfindlich.

Zwei Tiere, welche im Laufe einer kombinierten Infektion am 44. Tage bei der mikroskopischen Blutuntersuchung frei von Spirillen und von Trypanosomen waren, haben wir neben vier Kontrolltiere nochmals mit Trypanosomen geimpft. Die sechs Tiere zeigten genau dieselbe Trypanosomenentwicklung.

Daraus schliefsen wir:

Irgendein Grad von Immunität gegen die Trypanosomen scheint infolge der wiederholten trypanosomischen Rückgänge, die sich im Laufe der gemischten Infektion einstellen, nicht vorzukommen.

Das Erscheinen einer allergischen Eigenschaft der Trypanosomen gegenüber der schädlichen Wirkung der Spirilleninfektion wird klar gezeigt zuerst und hauptsächlich durch die Produktion von gemischten Infektionen mit Rückgängen bei der Impfung mit dem Blute eines Tieres, d. h. nach der gleichzeitigen Impfung von Spirillen und von Trypanosomen, die schon dem Einflufs der Spirilleninfektion unterworfen waren.

Es wird auch noch bewiesen durch die verschiedenen Bilder der trypanosomischen Wucherungen, bei den

wiederholten Weiterimpfungen mit dem Blute von kombinierten Infektionen.

Die trypanosomischen Wucherungen treten jedoch stärker hervor, sobald die Keime im Augenblicke einer intensiven Vermehrung entnommen worden sind. Darum auch mufste man sich fragen, ob es möglich sei, »neuen« Spirillen gegenüber die allergische Eigenschaft der Trypanosomen zu beweisen; um die Wirkung der »alten« Spirillen der Mischinfektion gänzlich auszuschliefsen, waren wir gezwungen, Blut zu entnehmen zu einem Zeitpunkt, wo die Trypanosomen sich nicht mehr mit den Spirillen gemischt befinden, d. h. zu einer Endperiode, die stets eine Periode von starker Vermehrung und starker Virulenz der Keime ist.

Die vorhergehenden Versuche hatten uns gelehrt, dafs zur Zeit der gleichzeitigen Impfung unserer »Normal«-Keime beziehungsweise zur Zeit einer nach der trypanosomischen Impfung vorgenommenen spirillischen Impfung die Entwicklung der Trypanosomiase nie eine Änderung erleidet. Bei spirillischen Impfungen, die den trypanosomischen Impfungen vorangingen, zeigte es sich, dafs die gemischten rückschrittlichen Vorgänge dann vorkommen, wenn die spirillischen Impfungen 2, 3, 4 Tage zurückliegen. In einem Falle (Tabelle VII, Nr. 11) sahen wir, wie ganz ausnahmsweise eine gemischte, mit Krisen verbundene Infektion bei einer trypanosomischen Impfung, die 9 Tage nach der spirillischen Impfung vorgenommen worden war, erschien und dies infolge einer aufserordentlich späten und lang anhaltenden spirillischen Infektion.

Kontrolltiere, vor 12 Tagen spirillierte Tiere und gleichzeitig oder am 1. und 2. Tage nachher mit Spirillen zu infizierende Tiere wurden mit Blut des Tieres 12 (Tabelle VII), am 8. Tage der beschliefsenden trypanosomischen Wucherung entnommen, geimpft.

Die Prüfungstiere erlagen am 4. Tage einer Trypanosomiase. Wir können folglich annehmen, dafs das Blut frei von Spirillen war. Nun aber zeigen sich die Trypanosomen gegen die gleichzeitige spirillische Impfung (Nr. 6) und gegen die Impfung, die

1 und 2 Tage nach der ersten vorgenommen wird, entschieden empfindlich. Anstatt am 4. Tage, starben zwei Tiere erst am 8. Tage. Anderseits, obwohl die spirillische Impfung, die mehr als 12 Tage zurücklag, nur eine sehr geringe Blutinfektion verursacht hatte, zeigte eins von diesen Tieren ein Bild von typischen Rückgängen, ohne dafs wir jedoch bei mikroskopischer Untersuchung die Gegenwart von Spirillen entdecken konnten. Es zeigte einen völligen Ruhestand von 5 Tagen und starb am 13. Tage nach der Trypanosomenimpfung.

Schlufsfolgerungen.

Die allergische Eigenschaft, welche die Trypanosomen im Laufe der gemischten Infektion mit Rückgängen gewinnen, kann gegen neue Spirillen bewiesen werden mittels Impfung mit dem Blute, das im Augenblick des Verschwindens der Spirillen ganz am Ende der letzten Wucherung entnommen wurde. Das Erscheinen dieser Eigenschaft erklärt uns, wie die Wirkung eines spirillischen Rückfalls allein nur eine Verlangsamung in der Entwicklung der Trypanosomiase hervorbringt, wohingegen sie imstande ist, in den Fällen, wo die Trypanosomen dem Einflusse der ersten spirillischen Wucherung schon ausgesetzt waren, einen scheinbar vollständigen und sogar wiederholten Rückgang der trypanosomischen Blutinfektion zu bewirken. Die Erscheinungen, die wir im Laufe des Studiums der kombinierten Spirillen- und Trypanosomeninfektion beobachten konnten, bestätigen unsere Angaben betreffs der spirillischen Infektion, von dieser Eigentümlichkeit abgesehen, dafs im Laufe der kombinierten Infektion die Spirillen sich bisweilen in der Blutflüssigkeit länger und mit stärkerer Virulenz zu erhalten scheinen.

Die allergische Eigenschaft der Trypanosomen gegenüber der schädlichen Wirkung der spirillischen Infektion scheint uns

eine Erscheinung allgemeinen Interesses zu sein, die den in der kombinierten Karzinom- und Spirilleninfektion erhaltenen Resultaten, neues Interesse beibringt. Wir haben uns so viel als möglich an die einfache Feststellung der Tatsachen gehalten, indem wir, als ungenügend begründet, mehr als eine Hypothese beiseite liefsen, welche nichtdestoweniger durch gewisse Entwicklungsvorgänge der gemischten Infektion vielleicht berechtigt war.

Die Erscheinungen der kombinierten Spirillen- und Trypanosomeninfektion haben wir auch bei der Ratte untersucht.

In zwei Serien von Versuchen haben wir bei der Ratte im Laufe der Spirilleninfektion die infizierende Kraft und die Infizierbarkeit des Blutes studiert. Die durch einen wenig virulenten Keim verursachte Blutinfektion war nach 20 Tagen beendet, ohne eine deutliche Immunität zu hinterlassen. Ein virulenter Keim rief eine Blutinfektion die scheinbar nach 25—30 Tagen beendet war, hervor.

Lange nach dem Rückfall entnommene Keime sind imstande, die typische Infektion herbeizuführen.

Die Trypanosomeninfektion (Nagana) schreitet regelmäfsig weiter und ist bei der Ratte im allgemeinen tötlich.

In der kombinierten Infektion sahen wir in den Fällen, wo beide Impfungen intraperitoneal zu gleicher Zeit vorgenommen worden waren oder wo die spirillische 1—5 Tage voranging, deutliche Änderung in der trypanosomischen Infektion. Die Tiere blieben bis 19 Tage am Leben, während alle Kontrolltiere innerhalb 5 Tage starben. Ähnliche Erscheinungen wie bei der kombinierten Infektion der Maus traten hier zutage. In einem Fall sahen wir eine Ratte, 24 Tage nach der Spirilleninfektion mit Trypanosomen infiziert, noch 24 Tage am Leben bleiben und einen Rückgang der ersten trypanosomischen Wucherung zeigen. Der Fall bildet eine Ausnahme. Später haben wir Gelegenheit gehabt, nach der Trypanosomenimpfung einer Ratte, welche Drehkrämpfe zeigte, eine Abwesenheit der Trypanosomen im Blute während 27 Tage zu beobachten. Dann wurde eine zweite Impfung vorgenommen, an der das Tier erlag. Verschiedene

noch unbekannte Einflüsse sind also fähig, in hohem Maſse die Trypanosomenentwicklung zu hemmen.

Auch auf die Ratte haben wir weitere Impfungen vorgenommen, um zu sehen, wie Trypanosomen, die durch mehrere aufeinanderfolgende Impfungen dem Einfluſs der Spirilleninfektion unterworfen waren, sich weiter bei der kombinierten Infektion verhielten. In einem Versuch haben wir nach der vierten Überimpfung eine Lebensdauer von 18, 20 und 23 Tagen beobachtet, in einem zweiten Versuch nach der fünften Überimpfung eine Lebensdauer von 25 und 26 Tagen; die Keime waren aber unterwegs auf die Maus überimpft worden. Im Laufe dieser Experimente beobachteten wir zufälligerweise bei einer Maus eine vollkommene Heilung nach kombinierter Infektion (Beobachtung von 4 Monaten). Die vorhergehende mehrmalige Einspritzung der Tiere mit wässerigem Trypanosomenextrakt hatte auf den Gang der Mischinfektion einen deutlichen, verlangsamenden, jedoch geringen Einfluſs.

Die intraperitoneale Impfung von kleinen Cellulosesäckchen mit Trypanosomen hatte keinen Einfluſs auf die 12 und 15 Tage später durch Impfung hervorgerufene Trypanosomenblutinfektion. Im Gegenteil schien die intraperitoneale Impfung von Spirillensäckchen in ähnlichen Verhältnissen einen deutlichen Einfluſs auszuüben.

Bei zwei Tieren kam nach der Säckchenimpfung keine spirillische Blutinfektion zustande. Nach der Trypanosomenimpfung beobachteten wir eine Lebensdauer von 21 und 24 Tagen. Das letzte Tier blieb, trotz zweimaliger massenhafter Impfung, während 11 Tage frei von Trypanosomen. Ein Tier, bei dem nach der Säckchenimpfung eine spirillische Blutinfektion aufgetreten war, lebte noch 12 Tage nach der Trypanosomenimpfung, ein anderes Tier, wo das Säckchen zufälligerweise mit Kokken infiziert worden war, 10 Tage — alle Kontrolltiere starben innerhalb 9 Tage.

Die verschiedenen erzielten Resultate brachten uns dazu, anzunehmen, daſs die Entwicklung der kombinierten Infektion von einem indirekten Einfluſs von löslichen Spirillenprodukten

herrührt. Versuche, die Entwicklung der Trypanosomeninfektion mit Filtrat von spirillenhaltigem Blute, mit eingetrocknetem Spirillenblut, mit wässerigem oder alkoholischem Extrakt von Spirillen aufzuhalten, haben bis jetzt fehlgeschlagen.

Wollen wir die Hauptergebnisse unserer Arbeit zusammenfassen, dann sagen wir, was die Versuche auf die Maus anbetrifft:

1. Auf Grund unserer Beobachtungen der Infizierbarkeit und der Infektiosität des Blutes von mit Spirillen (Tick-fever) infizierten Tieren nehmen wir an, dafs bei der Maus die Spirilleninfektion nach ungefähr 20—30 Tagen beendet ist. Der Erklärung von Levaditi und Manouelian für den Rückfallsmechanismus können wir nicht beipflichten.

2. Ein bestimmter Antagonismus besteht zwischen den karzinomatösen und spirillischen (Tick-fever) Infektionsvorgängen. Die Spirilleninfektion schützt in gewissem Mafse gegen die Karzinominfektion.

Besonders die Tiere, die 9—25 Tage vor der Krebsimpfung mit Spirillen geimpft worden sind, zeigen diese Erscheinung.

3. Die Verbindung der beiden, trypanosomischen (Nagana) und spirillischen (Tick-fever), Infektionen kann auf wunderbare Weise mit Trypanosomen infizierte Tiere gegen den schnellen Tod durch Trypanosomiase schützen.

Eine erste trypanosomische Blutvergiftung geht scheinbar vollständig zurück, und erst nach einer zweiten Wucherung der Trypanosomen erliegt das Tier.

Es ist nicht unbedingt notwendig, dafs der spirillischen Impfung die trypanosomische Impfung vorangeht (contra Trautmann).

4. Chronologisch erscheint als die günstigste Verbindung der spirillischen und trypanosomischen Infektionen das Zusammentreffen der intra-perito-

nealen trypanosomischen Impfung mit der Mitte der Spirilleninfektion. Eine andere Art der Wirkung ist die, bei welcher die trypanosomische Impfung dem Schlufs der spirillischen Infektion entspricht, die Trypanosomiase in ihrer Entwicklung einfach verspätet wird und nachträglich der Wirkung eines spirillischen Rückfalles unterliegt.

5. Es kann kein lösbarer Stoff sein, der von Spirillen ausgeschieden wird, der direkt den Stillstand der Entwicklung der Trypanosomen verursacht, da diese letzteren in mit Spirillen gefülltes Blut dringen und sich darin vermehren können (contra Trautmann).

6. In den Fällen, wo es dem Organismus nicht gelingt, die Entwicklung der Trypanosomen zu hindern, gelingt es ihm noch zuweilen in gewissem Mafse einen anderen unbekannten krankhaften Einflufs zu bekämpfen, der diese Entwicklung begleitet und welche zur Folge hat, dafs die einfach trypanosomierte Maus, deren Blut mit Parasiten angefüllt ist, immer im Zeitraum von ungefähr 24 Stunden stirbt. In der kombinierten Infektion sehen wir wie Tiere, deren Blut mit Trypanosomen angefüllt ist, mehr als 3 Tage widerstehen. Diese Tatsache wurde schon von Trautmann bemerkt.

7. Die Tiere, die Rückgang gezeigt haben, erliegen endgültig der Trypanosomiase in einem Augenblick, wo, nach unseren früheren Ergebnissen, die Spirilleninfektion ihrem Ende nahe ist, oder aller Wahrscheinlichkeit nach beendet ist.

8. Die methodisch erneuerte Spirillation der Tiere führt keineswegs einen neuen Rückgang der Trypanosomen herbei. Unsere früheren Ergebnisse erklären diese Erscheinung.

9. Es gibt keine Gewöhnung der Trypanosomen an die schädliche Wirkung, welche die spirillische Infektion hervorruft (contra Trautmann).

10. Die schliefsliche Vorherrschaft der trypanosomischen Wucherung wird dem Sinken und dem Ende der spirillischen Infektion verdankt.

11. Die gleichzeitige Impfung mit Spirillen und Trypanosomen, die bereits bei einem Tiere kombiniert wucherten, führt eine kombinierte Infektion mit Rückgängen herbei.

Die gleichzeitige Impfung von gewöhnlichen Spirillen und Trypanosomen führt niemals ein ähnliches Resultat herbei.

12. Im Laufe der wiederholten Impfungen mit in Augenblicken von Stillstand der kombinierten Wucherungen entnommenem Blute beschränkt sich schliefslich die anfängliche trypanosomische Wucherung auf einige Tage und die Trypanosomen können im Laufe der Ruhestandsperioden, die eine aufserordentlich lange Dauer erwerben, aus dem Blute verschwinden oder so selten werden, dafs die entferntere Impfung negativ bleibt. Die Gesamtheit der gesammelten Ergebnisse zeigt uns, dafs die Trypanosomen, anstatt sich an den schädlichen Einflufs, den die spirillische Infektion mit sich bringt, zu gewöhnen (Trautmann), gegen ihn empfindlicher werden, dafs sie statt der Gewöhnung eine allergische Eigenschaft gegenüber der Wirkung, die die spirillische Infektion ausübt, annehmen.

13. Wenn man aufeinanderfolgende Weiterimpfungen mittels Trypanosomen vornimmt, die in einem Augenblick von starker Entwicklung genommen sind, zeigt sich eine stärkere Bösartigkeit der Keime im Laufe der kombinierten Infektion, aber die Trypanosomen sind nichtsdestoweniger gegen den schädlichen Einflufs der Spirilleninfektion empfänglich.

14. Irgendein Grad von Immunität gegen die Trypanosomen scheint infolge der wiederholten trypanosomischen Rückgänge, die sich im Laufe der gemisch-

ten Infektion einstellen, im Organismus nicht vorzukommen.

15. Die allergische Eigenschaft, welche die Trypanosomen im Laufe der gemischten Infektion mit Rückgängen gewinnen, kann gegen neue Spirillen bewiesen werden durch Impfung mit dem Blute, das im Augenblick des Verschwindens der Spirillen ganz am Ende der letzten Wucherung entnommen wurde. Das Erscheinen dieser Eigenschaft erklärt uns, wie die schädliche Wirkung, die durch einen spirillischen Rückfall verursacht wird, allein nur eine Verlangsamung in der Entwicklung der Trypanosomiase hervorruft, wohingegen sie imstande ist, in den Fällen, wo die Trypanosomen dem Einflusse der ersten spirillischen Wucherung ausgesetzt worden sind, einen scheinbar vollständigen und sogar wiederholten Rückgang der trypanosomischen Blutinfektion zu bewirken.

16. Bei der Ratte bringt die kombinierte Spirillen-(Tick-fever) und Trypanosomen (Nagana)-Infektion ähnliche Erscheinungen zustande wie bei der Maus. Die intraperitoneale Impfung mit Spirillensäckchen schützt ebenfalls eine gewisse Zeit gegen den Tod an Trypanosomiase.

Die vorliegende Arbeit wurde im Hygienischen Institut in Berlin angefangen, im Laboratorium der Krankenkolonie Gheel (Belgien) beendet. Dem Professor Ficker bin ich für immer freundliche Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Tabelle

Die Versuche mit den ersten zehn Tieren

Nach Tagen	XI	XII	Nach Tagen	XIII	XIV	XV	Nach Tagen	XVI	XVII
1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
2	0	0	2	0	+	+	2	0	0
3	0	+	3	+	+	+	3	+ +	+ +
4	* +	+	4	+ +	+ + +	* + + +	4	+ +	+ +
5	+ +	+ + +	5	+	+	+	5	* +	0
6	0	+	6	+	+	+	6	0	+
7	0	0	7	0	0	0	7	0	+
8	0	0	8	0	0	0	8	0	+
9	0	0	9	0	0	0	9	0	+ +
10	0	0	10	0	0	0	10	0	+
11	0	+ +	11	0	0	0	11	+	+
12	0	+	12	0	0	0	12	+	+
24	Während zwölf Tagen immer negativ.		20	Während acht Tagen immer negativ.			13	+ +	+
							17	Noch während vier Tagen untersucht sp. 0.	

I a.

sind nicht in den Tabellen referiert.

Nach Tagen	XVIII	XIX	Nach Tagen	XX	XXI	Nach Tagen	XXII	XXIII
1	0	0	1	0	0	1	0	0
2	0	0	2	0	+	2	++++	++++
3	+	0	3	++++	++++	3	+	++++
4	• +++	+	4	+	+	4	0	—
5	+	+++	5	+	+	5	+	
6	0	0	6	• +	+			
7	0	0	7	+	+			
8	+	+	8	+	+			
9	+	+	9	+	0			
10	+	+						
11	0	0						
12	0	0						

Tabelle

Um die ›Infizierbarkeit‹ und die ›Infektiosität‹ der Tiere zu untersuchen, jede Maus ein Kontrolltier mit

Nach Tagen	XI	XI'	XII	XII'	Nach Tagen	XIII	XIII'	XIV	XIV'	XV	XV'
25	0	0	0	0	21	0	0	0	0	0	0
26	+ +	0	0	0	22	0	0	0	0	0	0
27	+ + +	0	0	0	23	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	26	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0
33	+	0	0	0	29	0	0	0	0	0	0
34	0	0	+	0	30	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	+	31	0	0	+	+	+	+
43	Während 8 Tagen immer negativ.				32	0	0	+	+	+	+
					33	0	+	0	0	0	0
					34	0	+	Während 6 Tagen immer negativ.			
					35	0	+				
					36	0	+				
					37	0	+				
					38	0	0				
					39	0	0				

I b.

impften wir sie alle mit dem Blut vom Tier XXIII (2. Tag), nachdem wir für ihrem Blute geimpft hatten.

Nach Tgn.	XVI	XVI'	XVII	XVII'
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	+
22	0	0	0	+
23	0	0	0	+
24	0	0	0	+
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0
28	0	0	0	+
29	0	0	0	0
30	0	0	Während 8 Tagen immer negativ.	
31	0	0		
32	0	0		
33	0	+		
34	0	+		
35	0	0		
36	0	0		
37	0	0		

Nach Tgn.	XVIII	XVIII'	XIX	XIX'
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	+	+
16	0	+	0	+
17	0	+	0	+
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	+	0	+
22	0	0	0	0
30	Während 8 Tagen untersucht immer negativ.			

Nach Tgn.	XX	XX'	XXI	XXI'
10	+	+ +	0	0
11	+	++++	+	+
12	—	++++	+	++++
13		0	0	0
14		0	0	0
15		0	0	0

Tabelle II.

Intraperitoneale Trypanosomenimpfung bei spirillierten und zu spirillierenden Mäusen.

Nach Tgn.	Tiere vor 2 Tagen i.-p. mit Spirillen geimpft							
	I	II	III	IV	V	VI		
1	0	0	0	sp. +	tr. +	0	3 Tiere eine Stunde später i.-p. mit Spirillen geimpft und 5 Tiere zwei Tage später i.-p. mit Spirillen geimpft sterben an Trypanosomiase am vierten Tage, ohne daſs Spirillen im Blut erschienen sind.	6 Kontrolltiere sterben alle an Trypanosomiase (mit Trypanosomen ++++) am vierten Tage.
2	sp. +	sp. + tr. +	tr. +	sp. ++ tr. +	sp. + tr. ++	sp. + tr. ++		
3	sp. + tr. ++	sp. + tr. ++	tr. ++	sp. + tr. ++	sp. + tr. ++	sp. + tr. ++		
4	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. ++	—	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. +		
5	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. +		sp. 0 tr. +	sp. ++ tr. +	sp. 0 tr. 0		
6	sp. 0 tr. ++++	sp. + tr. 0		sp. + tr. 0	sp. ++ tr. 0	sp. 0 tr. 0		
7	—	sp. + tr. +		sp. + tr. 0	sp. +++ tr. 0	sp. + tr. 0		
8		sp. ++ tr. +		sp. + tr. 0	sp. + tr. 0	sp. + tr. 0		
9		sp. + tr. +		sp. + tr. 0	sp. + tr. 0	sp. + tr. 0		
10		sp. 0 tr. 0		sp. 0 tr. 0	sp. + tr. 0	sp. + tr. 0		
11		sp. 0 tr. 0		sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0	sp. + tr. +		
12		sp. 0 tr. 0		sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. 0	sp. + tr. +		
13		sp. 0 tr. +		sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +		
14		tr. ++		tr. ++	tr. ++	tr. ++		
15		tr. +++		tr. +++	tr. +++	tr. +		
16		tr. ++++		tr. ++++	tr. ++++	tr. ++++		
17		—		—	—	—		

Tabelle III.

Intraperitoneale Spirillenimpfung bei Mäusen.

		Nach Tagen	1	2	3	4
		1	0	0	+	+
		2	++	+	++	+++
		3	++	++	+++	++++
		4	+++	++++	++++	++++

Trypanosomenimpfung.

		Nach Tagen	1	2	3	4
	1	5	sp. ++++ tr. 0	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +	sp. ++++ tr. 0
	2	6	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. 0
	3	7	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. ++++ —	sp. 0 tr. ++++ —	sp. 0 tr. +
	4	8	sp. 0 tr. +++			sp. 0 tr. ++
	5	9	sp. 0 tr. ++++			sp. 0 tr. +++
	6	10	sp. 0 tr. ++++			sp. 0 tr. 0
	7	11	sp. 0 tr. ++++			sp. 0 tr. 0
	8	12	—			sp. 0 tr. 0
	9	13				sp. 0 tr. +
	10	14				sp. 0 tr. ++
Neue i.-p. Spirillenimpfung	11	15				sp. 0 tr. +++
	12	16				sp. 0 tr. +++
	13	17				sp. 0 tr. 0
	14	18				sp. 0 tr. 0
Neue i.-p. Spirillenimpfung	15	19				sp. 0 tr. +
	16	20				sp. 0 tr. +
	17	21				sp. 0 tr. ++
Neue i.-p. Spirillenimpfung	18	22				sp. 0 tr. +++
	19	23				sp. 0 tr. ++++
	20	24				—
	21	25				

Fortsetzung der

Intraperitoneale Spirillen-

		Nach Tagen	5	6	Nach Tagen	7	8
		1	0	+			
		2	+	+ +	1	+	+
		3	+ +	+ + +	2	+ +	+ +

Trypanosomen-

	1	4	sp. ++++ tr. 0	sp. ++++ tr. 0	3	sp. + + + tr. 0	sp. + + + tr. 0
	2	5	sp. ++++ tr. 0	sp. 0 tr. 0	4	sp. ++++ tr. 0	sp. ++++ tr. 0
	3	6	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. 0	5	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0
	4	7	sp. 0 tr. + +	sp. 0 tr. +	6	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0
	5	8	sp. 0 tr. + + +	sp. 0 tr. + + |	7	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0
	6	9	sp. 0 tr. + + +	sp. 0 tr. ++++	8	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0
	7	10	sp. 0 tr. 0	—	9	tr. 0 sp. 0	sp. 0 tr. 0
	8	11	sp. 0 tr. 0		10	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0
	9	12	sp. 0 tr. 0		11	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. 0
	10	13	sp. 0 tr. 0		12	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +
Neue i.-p. Spirillen-impfung	11	14	sp. 0 tr. 0		13	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +
	12	15	sp. 0 tr. 0		14	sp. 0 tr. + +	sp. 0 tr. +
	13	16	sp. 0 tr. 0		15	sp. 0 tr. + + +	sp. 0 tr. +
	14	17	sp. 0 tr. 0		16	sp. 0 tr. ++++	sp. 0 tr. + |
Neue i.-p. Spirillen-impfung	15	18	sp. 0 tr. +		17	—	sp. 0 tr. + |
	16	19	sp. 0 tr. + +		18		sp. 0 tr. +
	17	20	sp. 0 tr. ++++		19		sp. 0 tr. + |
Neue i.-p. Spirillen-impfung	18	21	—		20		sp. 0 tr. + |
	19				21		sp. 0 tr. + + +
	20				22		sp. 0 tr. ++++
	21				23		—

Tabelle III.

impfung bei Mäusen.

Nach Tagen	9	10	11
1	++	++	++

impfung.

Nach Tagen	9	10	11
2	sp. ++++ tr. 0	sp. +++ tr. 0	sp. ++++ tr. 0
3	sp. + tr. +	sp. ++++ tr. 0	sp. ++++ tr. +
4	sp. 0 tr. ++	sp. ++++ tr. 0	sp. ++++ tr. ++
5	sp. 0 tr. ++++	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. ++++
6	—	sp. 0 tr. +	—
7		sp. 0 tr. +	
8		sp. 0 tr. ++	
9		sp. + tr. ++	
10		sp. + tr. ++	
11		sp. + tr. 0	
12		sp. + tr. 0	
13		sp. 0 tr. 0	
14		sp. 0 tr. 0	
15		sp. 0 tr. +	
16		sp. 0 tr. + — [1])	

Nach Tagen	Zu gleicher Zeit mit Spirillen und Trypanosomen geimpft		
	12	13	14
1	sp. + tr. 0	sp. + tr. 0	sp + tr. 0
2	sp. +++ tr. +	sp +++ tr. 0	sp. +++ tr. 0
3	sp. ++++ tr. ++	sp. ++++ tr. +	sp. ++++ tr. +
4	sp. 0 tr. ++++	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. +++
5	—	—	sp. 0 tr. ++++
6			sp. 0 tr. ++++
7			sp. 0 tr. ++++
8			—

4 Kontrolltiere erlagen der Trypanosomiase am dritten, vierten und fünften Tage.

1) Zufälligerweise durch die Einspritzung getötet.

Tabelle IVa.

Nach Tagen	Tier i.-p. m. Spirillen geimpft	Normales Tier	Normale Tiere		Tiere vor 4 Tagen i.-p. mit Spirillen geimpft		Normale Tiere	
	II.	1.*	2.**	3.	4.*** sp. ++++	5. sp. 0 vorher +.	6.***	7.
1	0	0	0	0	0	sp. ++	0	tr. +
2	0	+	tr. +	tr. +	tr. +	sp. + tr. +	tr. +	tr. ++
3	0	tr. ++	tr. ++	tr. ++	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. ++	tr. ++	tr. ++++
4	0	tr. +++	tr. +++	tr. +++	sp. 0 tr. ++	tr. +++	tr. +++	tr. ++++
5	0	tr. ++	—	tr. ++	sp. 0 tr. +++	0	sp. 0 tr. ++++	—
6	sp. +	tr. ++		tr. +	tr. +++	0	—	
7	sp. +	sp. 0 tr. ++		0	tr. +++	0		
8	sp. +	sp. 0 tr. +++		0	—	0		
9	sp. + tryp. Einspr.	sp. + tr. 0		0		0		
10	sp. + tr. +	sp. ++		0		0		
11	sp. ++ tr. +++	0		0		0		
12	sp. + tr. +++	0		0		0		
13	sp. + tr. +++	0		tr. +		tr. +		
14	sp. + tr. +++	sp. + tr. +		tr. +		tr. +		
15	sp. + tr. +	sp. + tr. +		0		0		
16	sp. + tr. 0	0		0		0		
17	0	0		0		0		
18	0	** tr. +		tr. +		tr. ++		
19	0	tr. +		tr. +++		—		
20	0	tr. ++		—				
21	tr. +	tr. ++						
22	* tr. +	tr. ++						
23	tr. +	tr. ++						
24	tr. +	tr. +++						
25	tr. ++	tr. ++++						
26	tr. +++	—						
27	*** tr. ++++							
28	—							

Tabelle IVb.

Nach Tagen	Tiere i.-p. m. Spirillen geimpft	Nach Tagen	Normale Tiere		Tiere vor 2 Tgn. i.-p. m. Spirillen geimpft
	XII		*1'	2'	*3'
1	0	1	tr. +	tr. +	tr. +
2	0 Tryp.-Impf.	2	tr. ++	tr. ++	tr. ++|
3	sp. + tr. +	3	tr. ++++	tr ++	tr. ++|
4	sp. + tr. +|	4	tr. ++++	tr. ++	tr. ++|
5	sp. 0 tr. ++|	5	—	tr. ++|	tr. ++|
6	sp. 0 tr. +++|	6		tr. ++	sp. + tr. ++
7	sp. 0 tr. +++|	7		sp. 0 tr ++	sp. + tr. +
8	sp. + tr. +	8		sp. 0 tr. +	sp. + tr. +
9	sp. +++ tr 0	9		sp. 0 tr +++	sp. + tr. +
10	sp + tr 0	10		sp. 0 tr. +++	sp. + tr. +
11	0	11		0	sp. 0 tr. +
12	0	12		Während 7 Tagen negativ	
13	0				
14	tr. +	19		0	tr. +
15	0 tr. +++	20		tr. +	tr. +
16	tr. +++	21		tr. ++	0
17	tr. +++	22		tr. +++	0
18	tr ++++	23		tr. ++++	0
19	tr ++++	24		—	Während 7 Tagen negativ
20	—				
		30			tr. +
		31			tr. ++
		32			tr. +++
		33			tr. ++++
		34			—

Tabelle V.

Intra-periton. Trypanosomenimpfung bei spirillierten und zu spirillierenden Mäusen.

Nach Tagen	Tiere vor 3 Tagen i.-p. mit Spirillen geimpft		
	IX sp. +	X sp. ++	XI sp. +
1	sp ++ tr. +	sp. ++ tr. +	sp. ++ tr. +
2	sp. ++ tr. ++	sp. ++ tr. +	sp. ++++ tr. +
3	sp 0 tr. ++|	sp. 0 tr. +|	sp. 0 tr. +
4	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. +
5	sp. 0 tr. ++++|	sp 0 tr. ++|	sp. 0 tr. +
6	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. ++
7	sp. + tr. 0	sp. 0 tr ++++	sp. 0 tr. +++
8	0	—	sp. + tr. 0
9	0		0
10	sp. + tr. 0		0
11	sp. + tr. 0		0
12	sp. + tr. +		sp. +
13	sp. + tr. ++		sp. +
14	sp. + tr. +++		sp. ++
15	0		0
16	0		0
17	0		0
18	tr. +|		tr. +
19	tr. ++		tr. +
20	tr. ++		tr. ++
21	tr. +++		tr. +++
22	tr. +++		tr. +++
23	tr. ++++		tr. ++++
24	tr ++++		—
25	—		

8 Tiere vor 30, 35, 28, 17 und 13 Tagen mit Spirillen geimpft erlegen der Trypanosomiase den vierten oder sechsten Tag

3 Tiere vor 1/2 Stunde mit Spirillen geimpft, 3 am folgenden Tage mit Spirillen geimpft und 3 Kontrolltiere erlagen der Trypanosomiase den dritten, vierten oder fünften Tag.

Tabelle

Trypan.-Impfung beim Tiere vor 8 Tg. i.-p. mit Spirillen geimpft	
Nach Tagen	IX sp. +
1	sp. + + tr. +
2	sp. + + tr. +
3	sp. 0 tr. + + |
4	sp. 0 tr. + + +
5	sp. 0 tr. + + + +
6	sp. 0 tr. + + +
7	sp. + tr. 0
8	0
9	0
10	sp. + tr. 0
11	sp. + tr. 0
12	sp + tr. +
13	sp. + tr. + +
14	sp. + tr. + + +*
15	0
16	0
17	0
18	tr. + |
19	tr. + +
20	tr. + +
21	tr. + + +
22	tr. + + +
23	tr. + + + +
25	—

Nach Tagen	Normale Tiere	
	* 1.	2.
1	tr. +	0
2	tr. +	0
3	tr. + |	0
4	tr. + +	tr. +
5	tr. + + |	tr. + +
6	sp. + tr. + + +	sp. + + + tr. + + +
7	sp. + + tr. + + +	sp + + + tr. + + +
8	0	0
9	0	0
10	sp. + tr. 0	0
11	sp. + tr. 0	0
12	0	0
13	0	—
14	0	
15	tr. +	
16	tr. + +	
17	** tr. + +	
18	0	
19	0	
20	0	
21	sp. 0 tr. +	
22	tr. + +	
23	tr. + +	
24	tr. + + +	
25	—	

Nach Tagen	Mäuse geimpft mit Blut sehr reich an Spirillen den 2. Tag der Infektion		
	3.	4.	5.
1	0	0	0
2	sp. +	sp. +	sp. --
3	sp. + +	sp. + + +	sp. + + +
4	sp. + + + +*	sp. + + + +	sp. + + · ·
5	—	0	—
6		0	
7		0	
8		tr. +	
9		tr. + +	
10		tr. + + + +	
11		—	

VI.

Nach Tagen	Tiere i.-p. mit Spirillen geimpft		Tier vor 4 Tg. m. Spir. geimpft	Normales Tier	Normale Tiere		Normale Tiere	
	6.	7.	** 8. sp. +	** 9.	*** 10.	11.	**** 12.	13.
1	0	0	tr. +	0	0	0	0	0
2	0	0	tr. +	tr. +	tr. +	tr. +	0	0
3	0	0	tr. +	tr. +++	tr. +++	tr. +++	tr. +	tr. +
4	sp. +	sp. +	tr. +	tr +++	—	—	tr. +|	tr. +|
5	sp. ++	sp.++++	0	sp. + tr. 0			tr. +++	tr. ++
6	*sp.++++	0	0	0			—	tr. ++++
7	0	0	tr. +	0				—
8	0	0	tr. ++	0				
9	0	sp. ++	* * * tr. +++	0				
10	sp. + tr. +	sp. + tr. +	tr. +++	0				
11	sp. +++ tr. +	sp. 0 tr. ++	tr. 0	tr. +				
12	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. ++	0	tr. +				
13	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. ++	**** 0	tr. +|				
14	tr. ++++	tr. ++	0	tr. +				
15	—	tr. ++	tr. +	tr. +				
16		tr. +++	tr. +|	tr. +				
17		tr. ++++	tr. ++|	tr +|				
18		tr. ++++	tr. ++++	tr. +|				
19		tr. ++++	—	tr. ++				
20		—		tr. +++				
21				—				

Tabelle

Nach Tagen	I.-p. Tryp.-Impf. b. Tieren vor 2 Tgn. i.-p. mit Spirillen geimpft	Normale Tiere		Normale Tiere		Normale Tiere	
	IX sp. +	1.	2.	** 3.	4.	**** 5.	6.
1	sp. ++ tr. +	0	0	0	0	0	0
2	sp. ++ tr. +	0	0	0	0	0	tr. +
3	sp. 0 tr. +++	sp. + tr. +	0	sp. + tr. +	sp. + tr. +	sp. ++	tr. +++
4	sp. 0 tr. +++	sp. ++ tr. +	tr. ++	sp. + tr. +	sp. + tr. +	sp. +++	—
5	sp. 0 tr. ++++	sp. ++ tr. +	tr. ++	sp. + tr. +	sp. + tr. +	sp. +++	
6	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. ++	sp. + tr. 0	0	0	
7	sp. + tr. 0	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. +++	0	0	0	
8	0	sp. 0 tr. +++	sp. 0 tr. ++++	0	0	0	
9	0	sp. 0 tr. ++++	sp. + tr. 0	0	0	0	
10	sp. + tr. 0	0	sp. + tr. 0	sp. +	0	0	
11	sp. + tr. 0	0	sp. + tr. 0	sp. +	sp. +	0	
12	sp. + tr. +	0	sp. + tr. 0	sp. +	sp. +	tr. +	
13	sp. + tr. ++	** 0	sp. + tr. 0	0	0	tr. +	
14	sp. + tr. +++	0	sp. + tr. 0	*** 0	0	tr. +++	
15	* 0	sp. + tr. 0	sp. 0 tr. +	0	0	0	
16	0	0	sp. 0 tr. +	0	0	0	
17	0	0	sp. 0 tr. +	0	sp. +	tr. +	
18	tr. ++	0	sp. 0 tr. +	0	sp. ++ tr. +	tr. ++	
19	tr. ++	0	sp. 0 tr. ++	0	sp. ++ tr. +	tr. +++	
20	tr. ++	0	sp. 0 tr. ++	0	0	—	
21	tr. +++	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +++ ****	0	0		
22	tr. +++	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +++	0	tr. +		
23	tr. +++	sp. 0 tr. ++	sp. 0 tr. ++++	0	tr. +		
24	tr. ++++	sp. 0 tr. +++	—	0	tr. +		
25	—	—		0	tr. ++		
26				0	tr. +++		
27				0	—		
28				0			
29				tr. +			
30				tr. +++			
31				—			

VII.

Nach Tagen	Tiere vor 2 Tagen mit Spirillen geimpft				Normale Tiere	
	**** 7. sp. 0	8. sp. 0	9. sp. 0	10. sp. 0	*** 11.	12.
1	sp. ++	sp. +	sp. +	sp. 0 tr. 0	0	0
2	sp. ++++	sp. +++	sp. +++	sp. +	0	0
3	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. 0	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +	sp. ++	sp. ++
4	tr. ++	tr. +	tr. ++	tr. +++	sp. ++++	sp. ++++
5	tr. +++	tr. ++	tr. +++	tr. ++++	0	sp. 0 tr. +
6	0	0	0	—	0	0
7	0	0	0		0	0
8	0	0	0		0	sp. ++
9	0	0	0		0	sp. +
10	tr. +	0	sp. +		0	0
11	tr. +	0	0		0	0
12	0	0	0		0	0
13	0	0	0		0	0
14	0	0	0		0	0
15	0	0	0		0	tr. +
16	0	0	0		0	tr. +
17	tr. +	0	0		0	tr. +
18	tr. ++	0	0		0	tr. +
19	tr. ++	0	0		0	tr. +
20	0	0	0		0	tr. ++
21	0	0	0		0	tr. +++
22	0	0	0		0	tr. +++
23	0	0	0		0	tr. +++
24	0	0	0		0	tr. ++++
25	0	0	0		0	tr. ++++
26	0	0	0		0	—
27	tr. +	tr. +	tr. +		bleibt negativ	
28	tr. ++	tr. ++	tr. ++			
29	tr. +++	tr. +++	tr. +++			
30	tr. ++++	tr. ++++	tr. ++++			
31	—	—	—			

Tabelle VIII.

Nach Tagen	L.-p. Tryp.-Impfung b. Tieren vor 3 Tgn. mit Spirillen geimpft IX sp. +
1	sp. ++ tr. +
2	sp. ++ tr. +
3	sp. 0 tr. ++|
4	sp. 0 tr. +++
5	sp. 0 tr. ++++
6	sp. 0 tr. +++
7	sp. + tr. 0
8	0
9	0
10	sp. + tr. 0
11	sp. + tr. 0
12	sp. + tr. +
13	sp. + tr. ++
14	sp. + tr. +++
15	0
16	0
17	0
18	tr. +|
19	tr. ++
20	tr. ++
21	* tr. +++
22	tr. +++
23	tr. ++++
24	tr. ++++
25	—

Nach Tagen	Tier mit Spirillen geimpft 1.
1	sp. 0
2	sp. +
3	sp. + *
4	sp. ++
5	sp. ++ tr. 0
6	sp. +++ tr. +
7	sp. 0 tr. +
8	sp. 0 tr. ++
9	sp. 0 tr. +++ **
10	sp. 0 tr. ++
11	sp. + tr. ++
12	sp. 0 tr. ++
13	sp. 0 tr. ++
14	sp. 0 tr. +++
15	sp. 0 tr. ++++
16	0
17	0
18	0
19	sp. 0 tr. +
20	sp. 0 tr. +
21	sp. 0 tr. +++
22	sp. 0 tr. ++++
23	—

Nach Tagen	Normales Tier 2.
1	0
2	tr. +
3	tr. ++
4	tr. +++
5	tr. ++++
6	—

Nach Tagen	Normale Tiere ** 3.	4.	Tiere vor 2 Tagen mit Spirillen geimpft 5. sp. 0	6 sp. 0
1	tr. 0	tr. +	0	sp. + tr. +
2	tr. +	tr. ++|	sp. + tr. +	sp. ++ tr. ++
3	tr. ++	tr. +++	sp. ++ tr. ++	sp. + tr. ++
4	tr. +++	tr. ++++	sp. 0 tr. ++|	sp. 0 tr. +++
5	sp. + tr. +++	—	sp. 0 tr. +	sp. 0 tr. +
6	sp. ++++		0	0
7	sp. ++ tr. 0		0	0
8	sp. + tr. 0		0	0
9	sp. + tr. 0		0	0
10	sp. + tr. 0		tr. +	0
11	0		0	tr. +
12	0		0	tr. +
13	0		tr. +	tr. ++
14	0		tr. ++	tr. ++
15	0		tr. +++	tr. +++
16	0		0	0
17	tr. ++		tr. +	0
18	tr. ++++		tr. +++	0
19	—		—	0
20				tr. +
21				tr. +
22				tr. ++
23				tr. ++
24				tr. +++
25				tr. ++++
26				—

Quantitative Untersuchungen über die Aufnahme von Benzol durch Tier und Mensch aus der Luft.

Unter Mitwirkung der Herren Dr. Gundermann aus Würzburg, Dr. Ottmar Stöhr[1]) aus Giebelstadt und Dr. R. Kleiner[2]) aus Dresden.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

Aufgabe.

Es ist bisher erst von einem in Wasser schwer löslichen Körper — dem Schwefelkohlenstoff[3]) — die quantitative Aufnahme durch die Lungen, und zwar nicht in erschöpfender Weise studiert. Gewisse Gründe liefsen es mir wünschenswert erscheinen, als zweite derartige Substanz das Benzol zu wählen. Der Körper ist in Wasser fast absolut unlöslich, genau zu bestimmen und von noch zunehmender praktischer Bedeutung. Vorversuche ergaben zudem eine starke Absorption.

Methode.

Lunge und Harbeck[4]) haben gezeigt, dafs ein Luftstrom von seinem Benzolgehalt quantitativ befreit wird, wenn man die

---

1) Dissertation Stöhr: Versuche zur Bestimmung der Benzolmengen, welche Tiere und Menschen aus der Luft absorbieren. Würzburg 1909.

2) Dissertation Kleiner, Über die quantitative Bestimmung der Benzolabsorption durch das Tier bei längerer Einatmung. Würzburg 1909.

3) Lehmann u. Wiener, Dieses Archiv, Bd. LXVII, S. 93.

4) Lunge u. Harbeck, Zeitschr. f. anorgan. Chemie, Bd. XVI, S. 26.

Luft durch eine Lungesche Zehnkugelröhre mit Nitriersäure (konzentrierte Schwefelsäure und rauchende Salpetersäure zu gleichen Teilen) langsam durchleitet. Das Benzol wird als Dinitrobenzol gewogen.

Folgende Versuche haben wir zum Studium der Methode ausgeführt:

1. Es wurde durch eine gewogene Benzolflasche mit doppelt durchbohrtem Stöpsel ein mäfsiger Luftstrom durchgesaugt, der hierauf zwei hintereinander geschaltete Lungesche Zehnkugelröhren mit Nitriersäure passierte. Am Ende des Versuchs wurde die Nitriersäure zusammengegossen aus den beiden Röhren, mit Natronlauge neutralisiert und mit Äther dreimal erschöpft. Der Äther wurde abdestilliert, auf ein kleines Volumen gebracht und der Rest des Äthers in einem kleinen Becherglas im Wasserbad verjagt. Wir erhielten schöne kristallinische, weifse oder mit einem Stich ins Gelbliche gefärbte Dinitrobenzolrückstände. Das Fehlen eines Geruches zeigt, dafs keine nennenswerten Mengen Nitrobenzol dabei entstanden waren. Die Ausbeute betrug 92—95%. Ich setze gleich die drei Versuche, die ich in dieser Richtung angestellt habe, hierher.

I. Durchgesaugtes Benzol = 0,444
Gefunden. Dinitrobenzol = 0,8808
Das Benzol könnte liefern 1,02 g Dinitrobenzol.
Es wurden 92,2% Benzol wiedergefunden.

II. Durchgesaugtes Benzol = 1,035
Gefunden. Dinitrobenzol = 2,005
Das Benzol könnte liefern 2,229 g Dinitrobenzol.
Es wurden 95% Benzol wiedergefunden.

III. Durchgesaugtes Benzol = 0,5
Gefunden. Dinitrobenzol = 1,027
Das Benzol könnte liefern 1,076 g Dinitrobenzol
Es wurden 95,1% Benzol wiedergefunden.

2. Da ich befürchtete, beim stofsweisen Ausatmen von Tier und Mensch durch Nitriersäure eine ungenügende Benzolbindung zu erhalten, so machten wir viele Versuche, das Benzol zunächst

in einem indifferenten Absorptionsmittel zu absorbieren. Dabei war weiter darauf zu achten, der Exspiration der Tiere keinen so kolossalen Widerstand entgegenzusetzen, wie ihn zwei Lungesche Zehnkugelröhren darstellen.

a) Absorption des Benzols in vier hintereinander geschalteten Flaschen mit Watte, Kühlung der Watte mit Eiskochsalzmischung. Vor der ersten Watteflasche[1]) war eine Flasche mit Paraffinöl (als Exspirationsventil s. u.) eingeschaltet. Nach Beendigung des Benzoldurchblasens wurden die fünf miteinander verbundenen Flaschen in einen Trog mit warmem Wasser (100°) gestellt und ca. 3—4 Stunden langsam Luft durchgeleitet. Das Benzol wurde der Luft in zwei Lungeschen Zehnkugelröhren entzogen und deren Inhalt wie oben verarbeitet. So wurden 94,4 und 97,7% des durchgeleiteten Benzols wiedergefunden.

Es zeigte sich allmählich, dafs die Methode eine jedesmalige Erneuerung der Wattefüllung der Absorptionsflaschen verlangt, was ziemlich umständlich ist. Auch verursachten die ziemlich weithalsigen Flaschen mit eingeschliffenem Glasstöpsel durch ihre grofse Undichtigkeitsgefahr manches Mifsgeschick.

b) Die Absorption des Benzols wird statt durch Watte durch vier hintereinander geschaltete, ebenfalls auf — 15° abgekühlte Paraffinölvorlagen bewirkt. Solange diese Flaschen mit Glas-, Kork- oder Kautschukstöpseln versehen waren. blieb auch mit dieser Anordnung manche Gefahr verbunden (Undichtigkeit, Retention von Benzol durch den Kautschuk etc.). Schliefslich wurden Paraffinölwaschflaschen aus einem Stück genommen, bei denen jeder Verlust ausgeschlossen war. Die weitere Bestimmung des Benzols war die gleiche wie bei den Wattewaschflaschen. Jetzt ergab auch die Absorption: 97,8%, 100%, 100%. Die beiden letzten Zahlen sind besonders wichtig, weil

1) Diese Methode gründet sich auf den Gedanken, dafs das leicht erstarrende Benzol (0°) sich an der grofsen Oberfläche der kalten Wattefüllung (— 15°) leicht in festem Zustande abscheiden müsse.

sie erhalten wurden, als ein Mensch durch gewogenes Benzol exspirierte und dieser rasche Luftstrom analysiert werden mufste.

c) Absorption des Benzols in zwei gekühlten Paraffinölflaschen, hinter die zwei U-förmige Röhren geschaltet wurden, die in ihrem untersten Teil Glasperlen und etwa 50 ccm Nitriersäure enthielten. Am Ende der Exspirationsperiode werden die Paraffinölflaschen erhitzt und ihr Inhalt wie oben unter langsamem Luftdurchleiten in der Nitriersäure aufgefangen. Dr. Stöhr hat nach dieser Methode gearbeitet und bei der Erprobung 90% wiedergefunden.

A. Versuche am Menschen.

Erste Gruppe der Menschenversuche (Dr. Stöhr).

Inspiration aus einer Flasche mit gewogenem Benzolvorrat, Exspiration durch zwei Paraffinflaschen und zwei u-Röhren mit Nitrirsäure (Methode 2c). Das eingeatmete Luftvolum ist berechnet.

Die Versuche zerfallen in zwei Gruppen; bei der ersten Gruppe wurde während des ganzen Versuches Benzolluft geatmet, bei der zweiten wurden meist gröfsere Benzolmengen eingeatmet, aber zwischen je zwei Atemzüge aus der Benzolflasche 1—2 Atemzüge aus reiner Luft eingeschoben. Wir teilen einmal die Bruttozahlen mit, sodann hat aber Herr Stöhr die Zahlen auf meinen Wunsch noch umgerechnet, indem er berücksichtigte, dafs er beim raschen Durchblasen von Benzoldampf durch seinen Apparat nur 90% wiederfand. Die Korrektur macht wenig aus.

Betrachten wir die Übersichtstabelle auf Seite 311, so ergeben sich folgende Resultate:

Atmet man 5—10 Minuten eine Konzentration von 10—16 mg Benzol im Liter ohne Zwischenatemzüge aus der reinen Luft ein, so ergibt sich eine (korrigierte) Absorption von 79,8—84,7% resp. eine Benzolausscheidung von 15,3—20,2%. Es werden also rund 80% des Benzols unter diesen Bedingungen absorbiert, eine aufserordentlich hohe Zahl, die wohl niemand erwartet hätte. Es ist das Resultat der Versuche 1—3.

Tabelle I.

Versuche ohne Zwischenatmung.

Laufende No.	Inhalation g	Dauer Min.	Über das Benzol inspirierte Luftmenge	Zwischenatmung	Mittl. Benzolgehalt der Luft in mg. pro l.	Ausgeschiedenes Dinitrobenz. in g	Ausgeschiedenes Benzol in g	Rohzahlen		Ausgeschiedenes Benzol korrigiert in g	Korrigierte Zahlen	
								% des nichtabsorbierten Benzols	% des absorbierten Benzols		% des nichtabsorbierten Benzols	% des absorbierten Benzols
1	0,590	5	35 l	Keine	16	0,2255	0,1046	17,7	82,3	0,1142	20,2	79,8
2	0,535	5	35 l	Keine	15	0,1609	0,0746	13,9	86,1	0,082	15,3	84,7
3	0,83	10	74 l	Keine	11	0,3062	0,142	17,1	82,9	0,1562	18,8	81,2
Versuche mit Zwischenatmung.												
4	0,441	10	70 l	Abwechselnd 2 Atemz. i. f. Luft 2 „ üb. Benz.	7	0,3567	0,1655	37,4	62,6	0,182	41,2	58,8
5	0,608	10	90 l	„ „	7	0,3991	0,1851	30,5	69,5	0,2036	33,4	66,6
6	0,627	5	36 l	Nach 2 Atemzügen über Benzol je 1 Zwischenatemzug	17,4	0,5328	0,2472	39,4	60,6	0,2719	43,5	56,5
7	1,0	5	36 l	Wenig Zwischenatmung	27,7	0,6997	0,3246	32,3	67,7	0,3592	35,9	64,1
8	0,69	5	36 l	„	19,1	0,5694	0,2642	38,3	61,7	0,2906	42,1	57,9
9	0,74	5	36 l	„	20,5	0,7321	0,340	43,4	56,6	0,374	50,5	49,5
10	0,91	5	36 l	„	25,2	0,7561	0,3508	38,6	61,4	0,3858	42,3	57,7
11	0,91	5	36 l	2 Atemzüge über Benzol, dann je 1 Zwischenatemzug	25,2	0,8797	0,4081	44,8	55,2	0,4489	49,3	50,7
12	1,52	8	57 l	„	26,6	1,1236	0,5213	34,3	65,7	0,5734	37,7	62,3

Kleiner wird natürlich die Absorption, wenn man zwischen die Benzolatemzüge Inspirationen aus der Zimmerluft einschaltet und die Exspirationen dieser Reinluftzüge auch auffängt. Atmeten wir, wie gewöhnlich in diesen Versuchen, zweimal über Benzol und dann einmal frische Luft, so bekamen wir eine Absorption von rund 60% oder 56—66%. Dabei waren die Atemzüge alle tief und langsam. Es entfernt sich eigentlich keines der Resultate wesentlich von diesen Zahlen.

Einen Einflufs der Konzentration des Benzoldampfes in der Luft auf die Absorptionsgröfse kann man nicht behaupten. Dagegen wird sicher weit mehr Benzol absorbiert, wenn 5 Minuten lang Luft mit der Konzentration $\frac{a}{2}$ geatmet wird, als wenn abwechselnd Luft mit dem Gehalt a und dem Gehalt 0 zur Einatmung kommt.

Zweite Gruppe der Menschenversuche (Dr. Gundermann).[1]

Inspiration aus einem Kasten mit genau bekanntem gleichem Benzolgehalt, Exspiration in vier gekühlte Paraffinvorlagen (Methode 2b).

Diese von Dr. Gundermann ausgeführten Versuche schliefsen sich eng an die gleich zu beschreibenden Tierversuche an, über die Methodik braucht hier nur gesagt zu werden: Die Versuchsperson atmet durch ein Müllersches Wasserventil aus dem Kasten ein und durch vier Exspirationsventile aus,

Perioden	Berechneter Gehalt in mg	Exspir. Vol.	Benzol eingeatmet in mg	Benzol ausgeschieden in mg	Benzol absorbiert in mg	Absorbiert in %	Nachträglich ausgeschieden in mg	In % des im Körper gebliebenen
11^{15}—11^{20} h	16,6	22 l	365,2	56,8	308,4	84,5		
11^{20}—11^{25} »	»	24 »	398,4	72,2	326,2	81,9		
11^{25}—11^{30} »	»	27 »	448,2	80,5	367,7	82,1		
11^{30}—11^{35} »	0	26 »	—				31,6	3,1
11^{35}—11^{40} »	0	27 »	—				16,8	1,6
11^{40}—11^{45} »	0	28 »	—				13,2	1,3
			1211,8	209,5	1002,3			

1) Von hier ab sind alle Zahlen unkorrigiert, also die ausgeschiedenen Werte gelegentlich eine Kleinigkeit zu niedrig und dadurch die Absorptionswerte etwas zu hoch — etwa 2—3%.

die Nase wurde mit der Hand geschlossen gehalten. Es wurde nur ein Versuch, dieser aber in drei Perioden ausgeführt, und dabei wurde, nachdem dreimal 5 Minuten lang Benzol geatmet worden war, nochmals dreimal 5 Minuten Reinluft geatmet und dabei die Exspirationsluft aufgefangen, um die nachträgliche Benzolausscheidung zu studieren.

Dieses nach einwandfreier Methode gewonnene Resultat stimmt sehr gut mit den drei ersten Versuchen der ersten Gruppe. Auch hier sind 82—84,5% Benzol absorbiert. Eine längere Fortsetzung der Versuche am Menschen erschien schwer möglich. Dosen von c. 16 mg Benzol im Liter Einatmungsluft machen nicht nur leichte Reizerscheinungen in der Luftröhre, sondern sie erregen auch jedesmal schon nach 10 Min., stärker nach 15 Min., etwas Schwindel und Hitzegefühl, so dafs es grofser Energie bedarf, um den Anforderungen, die der Versuch an die Aufmerksamkeit stellt, nachzukommen.

B. Tierversuche.

Die Tierversuche sollten vor allem zeigen, ob die Benzolaufnahme während mehrstündiger Versuche sinkt oder nicht.

Erste Gruppe von Tierversuchen.

(Eine Benzolflasche in die Inspirationsluft eingeschaltet.)

Es erschien von Anfang an einfach, einem Tier eine Inspirationsluft mit konstantem, einigermafsen willkürlich dosiertem Benzolgehalt zuzuführen. Sehr viele Mühe, die sich Herr Dr. Kleiner in Ausführung meiner Anregungen in dieser Richtung gegeben hat, hat aber doch zu keinem voll befriedigenden Resultat geführt, immerhin sind die methodologischen Studien so interessant, dafs sie hier wohl kurz wiedergegeben werden dürfen — ausführlicher finden sie sich in Dr. Kleiners Dissertation.

1. Versuchsreihe: Überleitungsversuche.

Es sollte das Tier aus einer Flasche atmen, in die ein Röhrchen bis auf eine gewisse Entfernung vom Benzolspiegel eingeschoben war. Zur Prüfung, ob man bei dieser Einrichtung konstante Benzolmengen verdunsten sehe, wurde folgendes probiert:

Zur Anwendung kam eine gewöhnliche Waschflasche mit Gummistöpsel und doppelten Röhren, deren eine bis nahezu zum Boden des Gefäfses reichte, doch so, dafs sie den Spiegel der geringen Benzolmenge nicht berührte, deren andere hart unter dem Verschlusse die Dämpfe ableitete. Um den Wassergehalt der Luft vom Benzol fernzuhalten, wurde eine Calciumchloridflasche vorgeschaltet. Sodann wurde die Luft durch einen Gummiballon über das Benzol geblasen und die übergetriebene Luftmenge mittels einer Gasuhr gemessen. Die Temperatur des Benzols blieb — wie an einem in demselben befindlichen kleinen Thermometer konstatiert wurde — während der ganzen Versuchsdauer konstant. Es wurde nun so eingerichtet, dafs in 3 Minuten ein Liter Luft über das Benzol streichen mufste bzw. bei längeren Versuchen, die sich bald als wünschenswert ergaben, in 10 Minuten $3^{1}/_{3}$ l, wie es dem Respirationsquantum eines kleinen Kaninchens entspricht. Konstant gehalten wurden: Temperatur, Druck der durchgeblasenen Luft (soweit manuell erreichbar), Luftmenge, Benzolvorrat = Benzolhöhe. Verändert wurde die Entfernung des unteren Röhrenendes vom Benzolspiegel. Dabei ergaben sich folgende interessante Resultate:

D = Entfernung der Röhre vom Benzolspiegel in mm.
B = Benzolverbrauch in mg in 10 Min.

D		B	D		B	B		B
2	:	216	44,5	:	180	100,0	:	170
7	:	206	53,7	:	185	105,0	:	167
12,5	:	205	64,0	:	180	110,0	:	166
17,5	:	195	74.0	:	180	115,0	:	158
28,8	:	200	84,5	:	180	120,0	:	146.
33,0	:	193	95,0	:	173	.		

Es nimmt also die Benzolabgabe ziemlich stark mit der Zunahme der Entfernung des Einblaseröhrchens vom Benzolspiegel ab, und nur sehr sorgsames sukzessives Senken des Röhrchens kann dies kompensieren.

Es kommt hinzu, dafs bei diesen Versuchen stets mindestens zwei ganz genau gleich gefüllte Flaschen zur Auswechslung nötig waren; in der gerade nicht gebrauchten sammelten sich

etwas Dämpfe an, welche den Gehalt für die erste Benutzung dieser Flasche erhöhten.

2. Versuchsreihe: Durchleitung durch Benzol.

Viel konstantere Werte erhielten wir, als wir gleichmäfsig Luft durch Benzol drückten. Ein Liter Luft nahm in je 3 Minuten bei Durchleitung durch »reines« Benzol auf: 330 mg; 300 mg; 330 mg; 320 mg (= Zahlen von vier Versuchen hintereinander bei insgesamt 12 Min. Dauer). Die Werte waren befriedigend konstant, aber viel zu hoch, auch bei mannigfachen Änderungen an den Benzolflaschen und Röhren blieb die Menge des mitgenommenen Benzols ziemlich gleich.

3. Versuchsreihe: Durchleitung durch Paraffin-Benzolmischungen.

Es gelingt so, vorausgesetzt, dafs man genügende Mengen (200 cc) der 10 oder 20proz. Mischung anwendet, einen wesentlich kleineren und dabei recht konstanten Gehalt zu erzielen, z. B. bei 20% in je 10 Min. resp. 6 l: 172, 195, 183, 173, 177, 155, 135. Man sieht aber immerhin doch wenig erwünschte Schwankungen, auch erweckten einige Resultate — die allerdings nicht weiter geprüft sind — den Verdacht, als ob in länger gestandenen Mischungen sich das Benzol in den obersten Schichten ansammle. Endlich war eine grofse Paraffinölvorlage als Inspirationsventil für die Tiere nicht erwünscht, da das Paraffinöl ziemlich schwerflüssig ist.

4. Versuchsreihe: Durchleitung durch zwei nebeneinander geschaltete Gefäfse mit Wasser und Benzol.

Diese Methode gestattet die Vorteile der Durchleitung durch reines Benzol mit einer grofsen Dosierbarkeit zu verbinden. Je kleiner das Lumen des Rohres im Benzolgefäfs ist, je weiter das Wasserrohr, um so weniger erhält das Tier Benzol zugeführt. Es waren zwei grofse gleiche Benzolflaschen da, welche abwechselnd angewendet wurden.

Die Ausführung der Tierversuche nach der Nebenschaltungsmethode.

Die Tiere wurden tracheotomiert und atmeten durch Müllersche Ventile. Das Inspirationsventil bestand aus den beiden oben beschriebenen parallel geschalteten Wasser- und Benzolflaschen, deren eintauchende Schenkel etwa 20 cm über den Flüssigkeitsspiegel emporragten, um auch bei stärkerem Exspirationsdruck kräftiger Tiere kein Benzol zu verlieren. Der vereinigte Luft- und Benzolstrom stand durch ein Kreuzrohr einmal mit der Trachealkanüle und zweitens mit zwei »Absorptionsbatterien« in Verbindung. Jede Batterie bestand aus einer Waschflasche mit Paraffinöl — welche als Müllersches Ventil funktionierte — und vier mit Watte gefüllten Waschflaschen, die besonders in einer Kiste, mit Eis und Salz umhüllt, aufgestellt waren. Die Paraffinflasche wurde nicht abgekühlt, weil sich im Laufe der Tierexperimente herausstellte, daſs das Paraffin — auf 16° C abgekühlt — durch den in der Exspirationsluft enthaltenen Wassergehalt in eine eishaltige breiige Substanz von fast unüberwindbarem Widerstand verwandelt war. Durch die Inspirationsventile nun atmete das Tier die Luft bzw. Luft-Benzol ein, durch die Paraffinexspirationsventile und die Wattebatterien aus. Die Benzolzufuhr wurde durch doppeltes Wiegen der Benzolvorlage — vor und nach jedem Versuchsabschnitte — konstatiert. Während des Wiegens der Benzolflasche atmete das Tier durch eine ganz gleichartige Ersatzflasche mit gleicher Benzolfüllung und mit in das Benzol gleichtief eintauchender Röhre. Diese Ersatzflasche, die nur ca. 1—2 Min. in Gebrauch war, wurde ebenfalls doppelt gewogen und der Benzolverbrauch zum vorhergehenden Versuchsabschnitte gezählt. Die Exspirationsluft wurde ca. alle 2—3 Min. während ¼ Min. aufgefangen, und zwar in einem Darmstück; sodann wurde sie aus diesem in ein mit Wasser gefülltes, graduiertes Meſsglas ausgepreſst und und die das Wasser verdrängende Luft auf diese Weise sicher und bequem bestimmt. Gleichzeitig wurde die Atmungsfrequenz pro Minute einer stetigen Kontrolle unterzogen und notiert. Nach dem Gebrauche wurden die Paraffin- und Wattegefäſse sofort hinter die Nitrierröhren geschaltet, in einem Wasserbade erhitzt und ein Luftstrom in der oben beschriebenen Art ca.

3 Stunden lang hindurchgeleitet. Das Tier wurde während des Versuchs von einer dritten Person gehalten, was zu erwünschter Ruhe des Tieres sehr viel beitrug; auch wurde dieses auf den Eintritt einer event. Narkose — durch Pupillarreflex — des öfteren untersucht.

Jeder Versuch zerfiel in 3—4 Perioden, während denen das inspirierte und exspirierte Benzol getrennt bestimmt wurde. Zum Schlusse jeden Versuchs wurde, ohne daſs neues Benzol eingeatmet wurde, eine möglichst lange Zeit das noch im Körper zurückgebliebene, nach und nach exspirierte Benzol aufgefangen (5. Periode).

Jeder Versuch beschäftigte zwei fleiſsige Arbeiter $1^1/_2$ Tage und erheischte groſse Aufmerksamkeit; die so erhaltenen Resultate sind noch nicht in jeder Beziehung entsprechend, da trotz aller Mühe die Konstanthaltung des Giftgehaltes der Inspirationsluft nur mangelhaft und annähernd gelang. Jedes unruhige Atmen des Tieres veränderte die regelmäſsige Verdunstung.

Es scheint mir nicht lohnend, unter diesen Umständen mehr von den mühsam gewonnenen Resultaten der mit Dr. Kleiner durchgeführten Arbeit mitzuteilen als die folgende kleine Tabelle, welche die Resultate der vier bestgelungenen methodologisch möglichst einwandfreien Versuche wiedergibt. Zehn weitere enthalten alle offenkundige Unwahrscheinlichkeiten.

Tabelle III.

Übersichtstabelle über die absorbierten Benzolmengen in % und den Benzolgehalt pro 1 in mg.

Versuch	Prozente des absorbierten Benzols in der			Absorption in der ganzen Versuchsstunde	Benzolgehalt in 1 Liter Atemluft in Milligramm			Benzolabsorption pro 10 Minuten in Milligramm			Benzolabsorption pro Kilo Tier in Milligramm			Nachträgliche Ausscheidung während 1 Stunde in % des absorbierten Benzol
	I. Periode Dauer 10 M.	II. Periode Dauer 20 M.	III. Periode Dauer 30 M.		I	II	III	I	II	III	I	II	III	
				%										
I	56,3	38,1	43,7	44,6	57,1	40,1	65,4	91,0	42,8	51,6	32,5	15,3	18,4	23,7
II	63.0	49,4	46,2	37,6	29,1	14,5	47,1	36,2	65,4	76,2	12,0	21,8	25,4	7,4
V	49,8	55,0	—	53,6	42,9	22,5	—	81,5	139,4	—	62,7	107,2	—	—
VI	53,9	51,1	—	52	55,4	73,9	—	211,6	164,6	—	88,1	68,5	—	0,79

Es läfst sich aus dieser Tabelle etwa ableiten:

1. Selbst in den ersten 10 Min. wird vom Kaninchen nicht mehr wie 63% des zugeführten Benzols absorbiert — gegen ca. 80% beim Menschen. In den einzelnen Versuchen schwankte die Absorption von 63—50%.
2. Bei zwei Versuchen nahm die Absorption in den späteren Perioden des Versuches ab — aber nicht sehr stark — von 56 auf 38 und 44, von 63 auf 49,4 und 46,2. In den beiden anderen Versuchen ist keine deutliche Veränderung, einmal eine kleine Abnahme, einmal sogar eine mäfsige Zunahme zu sehen.
3. Die durchschnittliche Absorption während der ersten Stunde liegt bei 37,6—53,6 und beträgt im Mittel 46,4.
4. Eine auffallende Abhängigkeit der relativen Absorption vom absoluten Benzolgehalt der Luft ist nicht zu konstatieren.

Zweite Gruppe der Tierversuche.

(Inspiration aus konstanter Benzolatmosphäre.)

Die Resultate der ersten Gruppe konnten mich noch nicht recht befriedigen, jedenfalls genügten sie nicht zu definitiven Schlüssen. Vor allem fehlte ihnen die Konstanz des Benzolgehalts. Durch Atmenlassen der Tiere aus dem Respirationskasten des von mir zu fabrikhygienischen Zwecken so oft benutzten Respirationsapparates schien sich diese Aufgabe am einfachsten lösen zu lassen. Hatte ich doch durch Durchpressen eines konstanten Luftstroms durch gleichmäfsig temperiertes gewogenes Benzol und Beimischung dieses Stromes zur gleichmäfsig angesaugten Ventilationsluft eines Respirationsapparats die besten Resultate für Herstellung einer gleichmäfsigen Benzol, Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff usw. Atmosphäre schon oft erzielt.

Dafs ich nicht gleich auf dieses Verfahren verfallen bin, kommt offenbar daher, dafs man in den Tier- und Menschenversuchen der ersten Gruppe die ganze dem Tier zugeführte Gift-

menge in einwandfreier Weise durch Wägung bestimmen kann, während bei Versuchen, in denen das Tier sich aufserhalb des Respirationsapparates aufhält und aus demselben Luft atmet, eine absolut genaue Kenntnis der Menge der Inspirationsluft und ihres Gehaltes nötig ist. Der Gehalt bestimmt sich ja leicht, auch die Menge ist durch eine Gasuhr, mit der man die Exspirationsluft, mifst genau genug zu ermitteln, immerhin ist eine Multiplikation zweier Zahlen nötig, während die direkte Wägung mühelos und einwandfrei erscheint.

Ich hatte bisher beim Arbeiten mit den Dämpfen ätherischer Körper ruhig angenommen, dafs ich, wenn ich in den durch meinen Respirationsapparat gesaugten Luftstrom einen kleinen, durch Chloroform etc. geprefsten Luftstrom einbliese, ich aus dem Volum der Saugluft und der absoluten mit der Prefsluft zugeführten Giftmenge den Gehalt der Kastenluft genau berechnen könne. Doch schien, da die so ermittelte Zahl weiteren Berechnungen zugrunde gelegt werden sollte, eine direkte Kontrolle wünschenswert.

Ich bestimmte deswegen den Gehalt der Inspirationsluft in meinem Kasten direkt und fand zu meiner grofsen Überraschung einen verschiedenen, zum Teil vom berechneten stark abweichenden, Gehalt in den einzelnen Teilen des Kastens, besonders bei grossen Dosen des Giftes. Es lohnt nicht, auf deren Ermittelungen hier näher einzugehen, es genügt, dafs am Boden der Gehalt bis viermal so hoch gefunden wurde wie an der Decke, obwohl das giftige Gasgemisch oben einströmte und an der diagonal gegenüber liegenden Ecke unten abgesaugt wurde. In der Mitte des Kastens herrschte etwa der berechnete Gehalt. Durch Anbringung eines Elektroventilators gelang es übrigens sehr leicht, eine vollkommene Luftmischung zu erhalten, und wir fanden bei vielen Kontrollbestimmungen nun stets Werte, die sich von den berechneten nur um 1 mg pro Liter unterscheiden[1])

1) Durch diese wichtige Feststellung werden übrigens meine bisherigen Gasarbeiten — abgesehen von einigen nur als Dissertationen publizierten Schülerarbeiten — nicht beeinflufst. Die Mischung durch einen Ventilator ist unnötig, soweit ich bisher sehe, sowie:

Jetzt konnten die Versuche bis zu 6 Stunden ausgedehnt werden und längere Perioden angeschlossen werden, in denen die im Tierkörper angehäuften Benzolmengen bei Reinlufteinatmung zum Teil ausgeschieden wurden. Die Versuchsanordnung dieser endgültigen Versuche, die ich mit Herrn Dr. Gundermann ausgeführt habe, wird durch folgendes Bild veranschaulicht. Die Resultate gibt Tabelle IV.

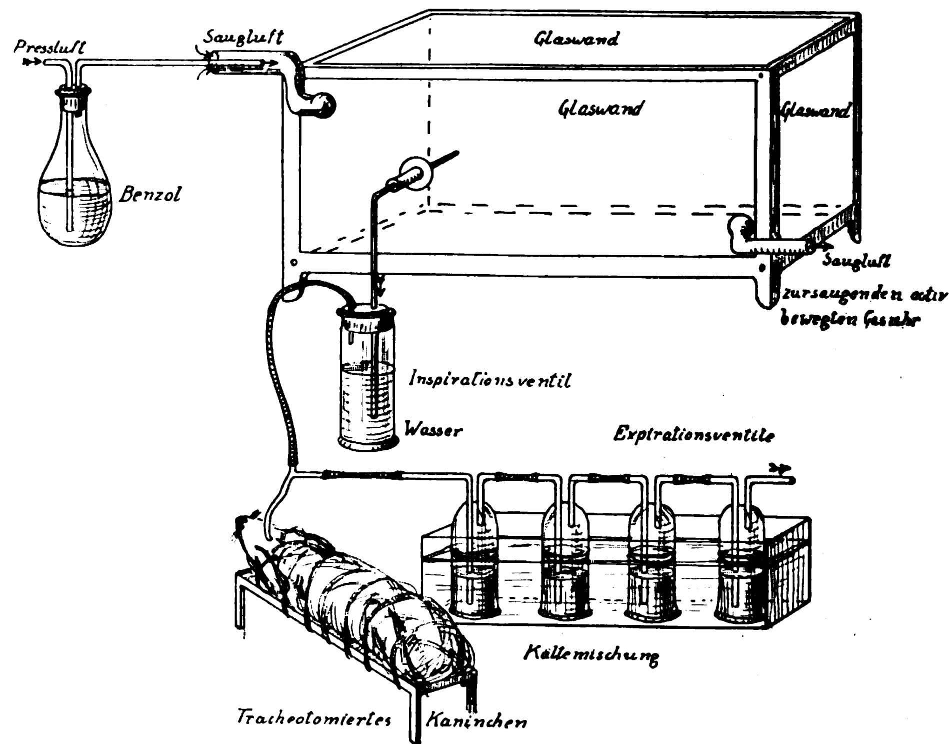


Fig. 1.

---

1. eine besondere Mischflasche vorgeschaltet wird, was früher meist der Fall war,
2. sowie mit sehr kleinen Giftmengen gearbeitet wurde,
3. wenn das Gas und die Luft annähernd gleiches spez. Gewicht haben.

In der Mehrzahl meiner früheren Arbeiten ist zudem die Konzentration des Gases unter Benutzung verschiedener Entnahmestellen im Kasten (oben und unten) direkt bestimmt. Ich bin übrigens damit beschäftigt, die früheren Arbeiten durch Stichproben in den Teilen zu kontrollieren, die etwa verdächtig erscheinen.

Tabelle IV. **Übersicht über 10 Tierversuche der zweiten Gruppe.**

Versuchsnummer	Gewicht des Kaninchens in g	Gesamtdauer in Stunden	Perioden in Stunden	Berechneter Gehalt in mg: Einzel Werte	Berechneter Gehalt in mg: Mittlere Werte	Exspirationsvol. in Litern	Verhalten d. Resp.	Benzol eingeatmet in mg	Benzol ausgeschieden in mg	Benzol absorbiert in mg	Absorbiert in %	Nachträglich ausgeschieden in mg	In % des im Tier verbliebenen
I.	2950	3	$10-10^{30}$	23	22,2	24	76	552,0	309,3	242,7	44		
			$10^{30}-11$	20,5		23	72	471,5	313,7	157,8	33,5		
			$11-11^{30}$	20,2		20	72	404,0	292,9	111,1	27,5		
			$11^{30}-12$	21,0		21	72	441,0	303,9	137,1	31,1		
			$12-12^{30}$	0		28						83,6	12,8
			$12^{30}-1$	0		24						55,9	8,6
								1868,5	1219,8	648,7			
V.	2800	8	$9^{15}-10^{15}$	35,5	35,3	29	72	1029,5	640,1	389,4	37,9		
			$10^{15}-11^{15}$	34,8		35,2	80	1225,0	802,4	422,6	34,5		
			$11^{15}-12^{15}$	36,2		25,0	80	905,0	593,4	311,6	34.5		
			$12^{15}-1^{15}$	34,9		25,0	90	872,5	545,3	327,2	37,5		
			$1^{15}-2^{15}$	0		37,3	87					164	11,3
			$2^{15}-3^{15}$	0		40,5						78,8	5,4
			$3^{15}-4^{15}$	0		40,0						88,8	6,1
			$4^{15}-5^{15}$	0		35,0						27,5	1,8
								4032,0	2581,5	1450,5			
IX.	3400	6	$11^{15}-11^{45}$	37,7	39,1	22		829,4	441,3	388,1	46,8		
			$11^{45}-12^{15}$	38,7		19		735,3	482,5	252,8	34,4		
			$12^{15}-12^{45}$	40,0		17,2		688,0	462,8	225,2	32,8		
			$12^{45}-1^{15}$	40,0		16,0		640,0	461,3	178,7	28,0		
			$1^{15}-2^{15}$	0		40,8						196	18,7
			$2^{15}-3^{15}$	0		34,3						129	12,3
			$3^{15}-4^{15}$	0		34,7						63,4	6,0
			$4^{15}-5^{15}$	0		32,3						40,4	3,8
								2892,7	1847,9	1044,8			
VIII.	3700	1	$9^{15}-10^{15}$	40,8	40,8	32	56	1305,6	594,5	711,1	45,5		
IV.	3000	7	$9-9^{30}$	43	41,4	19	70	817,0	515,2	301,8	37		
			$9^{30}-10$	42,6		19	83	809,4	566,2	243,2	30,1		
			10—11	35,1		30	86	1053,0	886,5	166,5	15,9		
			11—12	43,0		26	87	1118,0	988,3	129,7	11,6		
			12—1	40,3		28	92	1128,4	969,4	159,0	14 1		
			1—2	44,7		28	102	1251,6	1122,8	128,8	10,3		
			2—3	0		23	77					160	14,1
			3—4	0		30	70					152,3	13,4
								6177,4	5048,4	1129,0			

Fortsetzung der Tabelle IV.

Versuchs-nummer	Gewicht des Tieres in g	Gesamtdauer in Stunden	Perioden in Stunden	Berechneter Gehalt in mg Einzel-Werte	Berechneter Gehalt in mg Mittlere Werte	Exspirations-vol. in Litern	Verhalten d. Resp.	Benzol eingeatmet in mg	Benzol ausgeschieden in mg	Benzol absorbiert in mg	Absorbiert in %	Nachträglich ausgeschieden in mg	In % des im Tier verbliebenen
VII.	3450	2	12—1	45,4	44	33	80	1498,2	719,3	778,6	52,0		
			1—2	42,8		13	72	556,4	393,6	162,8	29,3		
								2054,4	1113,0	941,4			
III.	3450	5	9—9^{30}	57,5	49,5	25	73	1437,5	840,0	597,5	41,6		
			9^{30}—10	53,6		20	63	1072,0	723,05	348,95	32,6		
			10—10^{30}	47,6		18	54	856,8	571,65	285,15	33,3		
			10^{30}—11	43,1		17	54	732,7	490,3	242,4	33,1		
			11—11^{30}	49,1		13	56	638,3	417,64	220,66	34,6		
			11^{30}—12	46,0		13	50	598,0	395,33	202,67	33,9		
			12—1	0			60					309,12	16,2
			1—2	0			72					154,05	8,1
								5335,3	3437,9	1897,4			
II.	2950	1	5^{30}—6	74,4	72,9	20,5		1525,2	745,6	779,6	51,2		
			6—6^{30}	71,5		16,7		1194,0	778,3	415,7	34,9		
								2719,2	1523,9	1195,3			
VI.	3250	2	9^{45}—10^{45}	85	77,5	19,5	72	1657,5	802,8	854,7	51,6		
			10^{45}—11^{45}	70		6,3		441,0	284,8	156,2	35,5		
								2098,5	1087,6	1010,9			
X.	3550	4	9^{15}—9^{45}	100,2	97,1	22	72	2204,4	1328,6	875,8	39,8		
			9^{45}—10^{15}	94,0		18	72	1692,0	1134,8	557,2	33,0		
			10^{15}—10^{45}			22,2						168,8	11,7
			10^{45}—11^{15}			22,2						92,4	6,4
			11^{15}—11^{45}			29,1						82,9	5,7
			11^{45}—12^{15}			34,3						74,9	5,2
			12^{15}—12^{45}			26,7						60,9	4,2
			12^{45}—1^{15}			28,5						44,4	3,1
								3896,4	2463,4	1433,0			

Übersichtstabelle über die

Versuchsnummer	Gehalt pro Liter in mg		Benzolabsorption in %										Gesamtabsorption in mg	Nachträgliche Ausscheidung in % der Gesamtabsorption und (in Milligramm)									
	Einzelwerte	Mittl.	1/2 St.	2/2 St.	3/2 St.	4/2 St.	5/2 St.	6/2 St.	7/2 St.	8/2 St.	9/2 St.	10/2 St.		1/2 St.	2/2 St.	3/2 St.	4/2 St.	5/2 St.	6/2 St.	7/2 St.	8/2 St.	9/2 St.	10/2 St.
I.	20,2—23	22,2	44	33,5	27,5	31,1							648,7	12,8 (83,6)	8,6 (55,9)								
			38,7		29,3																		
V.	34,8–36,2	35,3	37,9		34,5		34,5		37,5				1450,5	11 3 (164)		5,4 (105)		6,1 (88,8)		1,8 (27,5)			
IX.	37,7—40	39,1	46,8	34,4	32,8	28,0							1044,8	18,7 (196)		12,3 (129)		6,0 (63,4)		3,8 (40,4)			
			42,9		30,4																		
VIII.		40,8	54,5																				
IV.	35,1–44,7	41.4	37,0	30,1	15,9		11,6		14,1		10,3		1129,0	14,1 (160)		13,4 (152,3)							
			33,5																				
VII.	42,8–45,4	44	52,0		29,3								941,4										
III.	43,1–57,5	49,5	41,6	32,6	33,3	33,0	34,6	33,9					1897,4	16,2 (309,12)		8,1 (154,05)							
			37,1		33,15		34,2																
II.	71,5–74,4	72,9	51,2	34,9									1195,3										
			43,0																				
VI.	70—85	77,5	51,6		35,5								1010,9										
X.	94—100,2	97,1	39,8	33,0									1433,0	11,7 (168,8)	6,4 (92,4)	5,7 (82,9)	5,2 (74,9)	4,2 (60,9)	3,1 (44,4)				
			36,4																				

Aus diesen zehn meines Erachtens recht vollkommenen Versuchen läſst sich folgendes schlieſsen:

1. Die Absorption von Benzol durch das Kaninchen beträgt in der ersten halben Stunde 54,5—37 % des Gehaltes der Inspirationsluft. Die mit Kleiner (S. 308) gefundenen Werte stimmen damit recht gut, diese neuesten Versuche sind aber entschieden viel einwandfreier.
2. Bei längerer Versuchsdauer verhält sich die Benzolabsorption bei den einzelnen Tieren nicht gleich. Zwar ist immer, soweit untersucht wurde, die Aufnahme in der ersten halben Stunde am höchsten gewesen, doch war bei mehreren Tieren die Abnahme bei längerer Versuchsdauer nur minimal, in anderen groſs. Im einzelnen nahm in Versuch V die Absorption von Stunde zu Stunde kaum ab:

1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
37,9	34,5	34,5	37,5

In Versuch III betrug in den folgenden halben Stunden die Absorption

1/2	2/2	3/2	4/2	5/2	6/2
41,6	32,6	33,3	33,0	34,6	33,9

In der Mehrzahl der Versuche ist die Ausscheidung in der 2. Stunde zwischen 35 und 29 %, während die 1. Stunde 52 bis 36 % aufwies, also eine deutliche Abnahme.

In einem Versuche (IV), der tadellos gelungen war, haben wir sogar

1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.
33,5	15,9	11,6	14,1	10,3 %

Es heiſst dies offenbar: Bei manchen Tieren bleibt, nachdem die erste halbe Stunde einen gewissen gröſseren oder kleineren Abfall der Aufnahme gebracht hat, die Absorption 3—4 Stunden lang konstant, bei anderen sinkt sie bald sehr stark und geht auf minimale Werte zurück. Als Grund kann ich nur vermuten, daſs die letztere Kategorie sich leicht mit Benzol sättigt, weil sie es schwer verarbeitet, während die

erste Kategorie fortwährend erhebliche Benzolmengen verarbeitet und wohl im Harn ausscheidet, wodurch Platz für die Aufnahme neuer Benzolmengen geschaffen wird.

Nencki hat bekanntlich gezeigt, dafs die Fähigkeit der einzelnen Kaninchen, eingeführtes Benzol zu Phenol zu oxydieren, in weiten Grenzen schwankt. Leider hat Nencki keine genaueren Angaben gemacht, was bei den stark und schwach phenolbildenden Tieren aus dem Benzol wird, das nicht zu Phenol oxydiert wird. Er nimmt an, dafs ein Teil zu Brenzkatechin weiter oxydiert, ein Teil als Benzol ausgeschieden wird, ohne dafs, soweit mir bekannt, bisher genauere quantitative Angaben vorliegen. Jedenfalls läfst sich aus den Nenckischen Angaben leicht verstehen, dafs verschiedene — nach meiner Meinung noch später aufzuklärende — Schicksale des Benzols bei den einzelnen Tieren ihre Benzolaufnahmefähigkeit stark in dem von mir gefundenen Sinne beeinflussen mufs. — Ich hoffe Zeit zu finden, dieser Frage noch weitere Aufklärung zu schenken, die weit hinein führt in die Frage der individuellen Verschiedenheit des Chemismus scheinbar gleicher Tiere gleicher Rasse. Es scheint auch lohnend, der Vererbung dieser Eigenschaften nachzugehen.

3. In den Versuchen wurde 648—1900 m Benzol aufgenommen, die toxische Wirkung wurde nicht studiert — den Tod der im Versuche gestorbenen Tiere dürfen wir nicht auf das Benzol, sondern in erster Linie auf Einfrieren des ersten Exspirationsventils beziehen. Sowie die Versuche länger wie 1/2 Stunde dauern, sind eben die ausgeschiedenen Wassermengen so grofs, dafs das entstandene Eis die Röhren zu verschliefsen droht.
4. Die Ausscheidung nach Beendigung der Benzoleinatmung dauerte stets 3—4 Stunden sehr deutlich an, es wurden in der 3. Stunde noch 27, 40 und 61 mg ausgeschieden. Es sieht so aus, als ob auch in der 5. und 6. Stunde kleine Benzolmengen in der Exspirationsluft zu finden sein müfsten.

1) Nencki und Sieber in Nencki, Opera omnia Bd. I, S. 686.

5. Das nach Schlufs der Benzoleinatmung ausgeschiedene Benzol betrug im Maximum 40,8 % des gespeicherten resp. im Körper zurückgebliebenen. Es hätte sich diese Zahl wohl bis auf 45 % erhöht, wenn man noch länger resp. bis zum Ende der Ausscheidung beobachtet hätte.

Vor einer Vertiefung der hier auftauchenden Fragen, schien es wünschenswert, zunächst einige andere ätherische Körper in ähnlicher Weise zu untersuchen.

Studien über die Absorption chlorierter Kohlenwasserstoffe aus der Luft durch Tier und Mensch.

(Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Tetrachloräthan.)

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann** und Dr. **Hasegawa**
aus Japan.

(Aus dem Hygienischen Institut zu Würzburg.)

Die früheren Untersuchungen des Würzburger Hygienischen Instituts über die Absorption von Gasen durch den Organismus beziehen sich bisher meist auf in Wasser lösliche Körper, von ätherischen Substanzen ist nur der Schwefelkohlenstoff und das Benzol bisher näher untersucht worden. Es mufste interessant erscheinen, einmal die gechlorten Kohlenwasserstoffe einer näheren Untersuchung zu unterziehen, und zwar waren neben rein theoretischen Gründen folgende praktische dabei mafsgebend:

1. Spielt das Chloroform heute noch immer eine aufserordentlich wichtige Rolle als Narkotikum und

2. sind eine ganze Reihe gechlorter Kohlenwasserstoffe der Fettreihe in der Fabriktechnik eingeführt, ohne dafs wir Näheres über ihre Aufnahme durch den Menschen wüfsten. Die vorliegende Untersuchung dient als wissenschaftliche Ergänzung zu mehr praktischen vergleichenden Studien über die Giftigkeit gechlorter Kohlenwasserstoffe, die bald folgt.

Methode der Bestimmung.

Zur Bestimmung des Chloroforms ist in den neueren Arbeiten meist ein Überleiten der Chloroformdämpfe über Ätzkalk oder Ätzmagnesia, wie dies Schmiedeberg zuerst getan hat, empfohlen und angewendet worden. Für die Bestimmungen und die Ermittelung meist gröfserer Mengen erschien uns dieses an sich ja vorzügliche Verfahren weniger geeignet, und wir adoptierten deshalb die u. a. von Vernon Harcourt (Journal of the chemical society Bd. 75 S. 1060) empfohlene Methode des Kochens des Chloroforms mit alkoholischer Kalilauge, die wir etwas modifizierten. Unsere methodologischen Erfahrungen sind:

1. Kocht man gewogene Chloroformmengen von einigen Dezigramm mit 200 ccm absolutem Alkohol, in den man 8 g Natrium in etwa 8 Stücken eingeworfen hat, 6 Stunden am Rückflufskühler, so findet man 95—96% des angewandten Chlors. Unter Verwendung von Phenolphthalein als Neutralisationsindikator läfst sich das Chlornatrium nach der Mohrschen Methode leicht bestimmen. Es wird dabei zunächst durch Wasserzusatz das Volumen des Alkohols auf 400 ccm erhöht und ein aliquoter Teil der Menge titriert;

2. Leitet man durch eine gewogene Flasche mit Chloroform einen Luftstrom langsam durch vier hintereinandergeschaltete, mit absolutem Alkohol gefüllte Vorlagen, so erhält man eine so vollständige Absorption des Chloroforms, dafs man bei Weiterbehandlung des Alkohols mit Natrium u.s.f. 95—96% des Chlors als Chlornatrium wiederfindet;

3. Leitet man durch 4 Flaschen mit absolutem Alkohol die Luft in einem so starken Strom, wie er bei der Exspiration eines Tieres oder eines Menschen entsteht, so findet man beim nachherigen Behandeln mit Natrium rund 90% des angewandten Chlors wieder. Wir haben deshalb in allen folgenden Bestimmungen 10% zu dem gefundenen Chloroform als Korrektion zugezählt.

2. Absorptionsversuche am Menschen mit Chloroform.

Unsere Menschenversuche, mit denen wir begannen, weil die Intelligenz des Menschen die Versuche unterstützt und uns

doch in erster Linie das Verhalten des Menschen interessant war, wurden zunächst in der denkbar einfachsten Form ausgeführt. Der Mensch atmete bei geschlossener Nase Luft durch den Mund durch eine Vorlage ein, welche eine gewogene Chloroformmenge enthielt. Es wurde nicht durch, sondern über das Chloroform geatmet und das Gefäfs so gewählt, dafs sich das Niveau des Chloroforms im Verlauf des Versuchs nicht wesentlich änderte, da umständliche Studien gezeigt hatten, dafs der Abstand der luftzuführenden Röhre vom Chloroformspiegel von bedeutendem Einflufs auf das verdampfende Chloroform ist. Die Exspirationsluft wurde vollständig ausgeblasen durch vier hintereinandergeschaltete Alkoholgefäfse. Es standen vier Sätze von je vier Alkoholgefäfsen bereit, um nach je 5 Minuten die Vorlagen wechseln zu können. Nach dem Versuch wurde der Inhalt der Alkoholgefäfse, die während eines Zeitabschnittes gedient hatten, vereinigt und mit Natrium behandelt, wie oben angeführt. Die Resultate dieser Versuche an mehreren Versuchspersonen teilen wir in folgenden Tabellen mit:

Tabelle I.

Kurze Absorptionsversuche am Menschen. Gewogene Chloroformvorlage.

Datum	Versuchsperson	Versuchsdauer	Mittl. Gehalt pro Liter in mg	Exspir.-Vol. in Litern	Chloroform eingeatmet in mg	Chloroform ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in %
16. IX. 09.	Dr. Hasegawa							
früh		3 Min.	15,7	24,1	380	156,8	223,2	58,8
mittags		5 Min.	13,1	33,5	440	203,9	236,1	53,7
abends		10 Min.	26,4	54,0	1430	564,5	865,5	60,6
17. IX. 09.	Dr. Gundermann							
früh		3 Min.	31,3	14,2	445	148,1	296,9	66,8
mittags		5 Min.	31,9	24,1	770	229,3	540,7	70,3
abends		10 Min.	20,4	58,2	1190	437,3	752,7	63,3
18. IX. 09.		10 Min.	19,8	53,3	1060	282,4	777,6	73,4

Tabelle I bietet eine Reihe von Versuchen von wenigen Minuten Dauer, jeder einzelne von dem andern durch mindestens

3 Stunden getrennt. Die Zahlen geben an, wieviel Chloroform in den allerersten Minuten einer Chloroformabsorption zurückgehalten wird.

Aus der Tabelle folgt, dafs von Dr. Hasegawa in 3,5 und 10 Minuten 53,7—60,6 % absorbiert werden, wogegen Dr. Gundermann 63,3—73,4 % absorbierte. Eine Abhängigkeit der prozentualen Absorption von der Konzentration ist nicht zu ersehen. Es scheint, als ob für kurze Zeiten und für Konzentrationen, die nur zwischen 13 und 32 mg schwanken, die Absorption von der Zeit und der Konzentration einigermafsen unabhängig ist.

Die weiteren Versuche an Menschen haben wir nicht nach dieser primitiven Methode angestellt, sondern wie beim Benzol durch Einatmen der Chloroformluft durch eine Röhre aus dem mit gleichmäfsiger Chloroformluftmischung durchströmten Respira-

Tabelle IIa.

Versuche des Hrn. Herrmann. (Geatmet aus dem Respirationsapparat.)

Versuchs-dauer	Perioden in Stunden	Berechneter Gehalt in mg	Exspir.-Vol. in Litern	Chloroform eingeatmet in mg	Chloroform ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in %
20 Min.	4^{30}—4^{35}	21,7	28,3	614,1	156,8	457,3	74,5
	4^{35}—4^{40}		25,7	557,6	154,3	403,3	72,4
	4^{40}—4^{45}		29,4	637,9	200,5	437,4	68,6
	4^{45}—4^{50}		36,8	798,5	241,5	557,0	67,6
				2608,1	753,1	1855,0	
20 Min.	5—5^{5}	24	25	600	159,5	440,5	73,4
	5^{5}—5^{10}		37	888	238,0	650,0	73,2
	5^{10}—5^{15}		31,6	758,4	235,4	523,0	69
	5^{15}—5^{20}		31,7	760,8	298,2	462,6	60,9
				3007,2	931,1	2076,1	
20 Min.	4^{30}—4^{35}	25	23	575	147,8	427,2	75
	4^{35}—4^{40}		25,4	635	160,8	474,7	75
	4^{40}—4^{45}		27,6	690	156,6	533,4	77
	4^{45}—4^{50}		22,7	567,5	146,0	421,5	76
				2467,5	610,7	1856,8	

tionsapparat (vergl. unten bei den Tierversuchen). Die Luft wurde mit dem Mund eingeatmet und durch den Mund (bei stets geschlossener Nase) durch vier Alkoholflaschen ausgeblasen. Der Gehalt der Inspirationsluft wurde teils berechnet, teils direkt bestimmt (vergl. Tierversuche), ihr Volum durch eine Gasuhr gemessen und daraus die absolute Menge des inspirierten giftigen Gases ausgerechnet. Der Gehalt der Exspirationsluft wurde wie oben bestimmt.

Unsere Tabellen geben Rubriken über die Mengen der Exspirationsluft und zeigen manchmal im Verlauf eines Versuchs nicht unbedeutende Schwankungen, woran die anfangs erregende und später die leicht narkotische Wirkung des Chloroforms unzweifelhaft beteiligt ist. Dosen von rund 20 mg pflegen 20 Minuten lang mit ganz leichten Intoxikationserscheinungen vertragen

Tabelle IIb.

Versuche von Hrn. Dr. Hasegawa. (Geatmet aus dem Respirationsapparat.)

Versuchs-dauer	Perioden in Stunden	Berechneter Gehalt in mg	Exspir.-Vol. in Litern	Chloroform eingeatmet in mg	Chloroform ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in %	Nachträglich ausgeschieden in mg	In % des Zurückgebliebenen
20 Min.	5^{20}—5^{25}	20,8	30,7	638,5	202,2	436,3	68,4		
	5^{25}—5^{30}	»	24,8	515,8	198,7	317,1	61,6		
	5^{30}—5^{35}	»	26,6	553,2	270,2	283,0	51,2		
	5^{35}—5^{40}	»	20,0	416,0	207,5	208,5	50,2		
				2123,5	878,6	1244,9			
20 Min.	11^{15}—11^{20}	23	31,3	720	365	355	49,4		
	11^{20}—11^{25}	»	22,3	513	192	321	63,0		
	11^{25}—11^{30}	»	19,4	446	176	270	61,6		
	11^{30}—11^{35}	»	18,0	414	195	219	53,0		
				2093	928	1165			
20 Min.	5^{30}—5^{35}	24	33,3	799,2	269,3	529,9	66,4		
	5^{35}—5^{40}	»	28,0	672,0	240,6	431,4	64,2		
	5^{40}—5^{45}	»	24,7	692,8	245,8	447,0	64,6		
	5^{45}—5^{50}	»	16,7	400,8	183,0	217,8	54,4		
				2564,8	938,7	1626,1			

zu werden (etwas Schwindel ist meist das einzige beobachtete Symptom), Gehalte von 35 mg bringen schon nach einer Viertelstunde wesentlich stärkere Wirkungen hervor. Aus diesen Gründen war es auch unmöglich, an Menschen länger zu experimentieren, und wir waren genötigt, zu Tierversuchen überzugehen. Bemerken wollen wir nur noch, dafs wir in einigen Menschenversuchen (Tabelle III) auch die nach Beendigung der Chloroformeinatmung fortdauernde Chloroformausscheidung noch eine Zeitlang beobachtet haben. Die Zahlen stehen in den Tabellen, sollen aber erst diskutiert werden, wenn die Tierversuche mitgeteilt sind.

Interessanter sind die folgenden Versuchsreihen, bei denen an einem Menschen hintereinander mehrere Perioden von 5 Minuten untersucht worden sind, und zwar bis zu einer Versuchsdauer von einer ganzen Stunde.

Tabelle III.

Versuchsperson	Perioden in Stunden	Berechneter Gehalt in mg	Exspir.-Vol. in Litern	Chloroform eingeatmet in mg	Chloroform ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in %	Nachträglich ausgeschieden in mg	In % d. zurückgebliebenen Chloroforms
Dr. Gundermann	4—4^{5}	21,5	24	516	103,7	412,3	80		
	4^{5}—4^{10}	»	22,2	477,3	122,9	354,4	74,3		
	4^{10}—4^{15}	»	31,0	666,5	153,4	513,1	76,9		
	4^{15}—4^{20}	»	25,3	543,9	138,6	405,3	74,6		
	4^{20}—4^{25}	»	27,0	580,5	149,9	430,6	74,2		
	4^{25}—4^{30}	»	26,8	576,2	150,9	425,3	73,8		
	4^{30}—4^{40}	0	56,4					95,8	2,7
	4^{40}—4^{50}	0	53,7					52,2	2,0
	4^{50}—5	0	66,6					56,6	2,2
				3360,4	819,4	2541,0			
Dr. Gundermann	10—10^{5}	35,8	25,3	893,0	172,7	720,3	80,7		
	10^{5}—10^{10}	»	25,6	903,6	183,1	720,5	79,8		
	10^{10}—10^{15}	»	25,3	893,0	207,5	685,5	76,8		
	10^{15}—10^{20}	0	29,8					68,8	3,2
	10^{20}—10^{25}	0	29,4					43,5	2,0
	10^{25}—10^{30}	0	37,5					39,1	1,8
				2689,6	563,3	2126,3			

Aus diesen Tabellen folgen nun deutlich eine Reihe ganz interessanter Resultate:

1. Es ist unverkennbar, dafs die Absorption schon während der ersten 20 Minuten langsam abnimmt, bald etwas deutlicher, bald etwas weniger deutlich, aber stets ist in der ersten Periode von 5 Minuten die Absorption am höchsten, in der letzten am kleinsten. Dabei kommen natürlich, wohl mit durch kleine Versuchsfehler bedingt, Schwankungen und einzelne Unregelmäfsigkeiten vor, doch beeinflussen sie das Resultat nicht. An den beiden untersuchten Deutschen, Dr. Gundermann und Dr. Herrmann, war die Absorption bei Dosen von 21,24 und 35 mg im Liter ungefähr die gleiche. Sie schwankte in den ersten Minuten zwischen 74 und 80% und sank allmählich auf etwas niedrigere Werte von 74—61%. Immerhin kann man sagen, dafs bei so schwachen Dosen im Laufe von 1/2 Stunde die Abnahme der prozentualen Absorption eine geringe ist und in der Regel unter 10% bleibt. Interessant ist, dafs Dr. Hasegawa, ein etwas zart gebauter Herr von einem Körpergewicht von 60—65 kg, entschieden etwas schlechter absorbiert hat als die beiden deutschen Vergleichspersonen. Seine Absorption war nie höher als wie 68,4% und sank nach 20 Minuten beide Male auf 54,4 resp. 50,2, Zahlen, wie sie bei den beiden anderen Versuchspersonen selbst bei 1/2stündiger Einwirkung niemals beobachtet wurden.

3. Tierversuche.

Für länger dauernde Tierversuche haben wir in Benutzung der in der vorhergehenden Arbeit (Lehmann mit Stöhr, Kleiner und Gundermann) für das Benzol gefundenen Methoden zur Herstellung eines konstanten Benzolgehalts der Inspirationsluft uns stets des Respirationsapparates bedient.[1]) Die Einzelheiten der Methodik dieser Versuche: Herstellung der Ventilation des Glaskastens durch eine bewegte Gasuhr, Bei-

1) Mannigfache zeitraubende Versuche, auf andere Weise konstante Chloroformgehalte der Inspirationsluft zu erzielen, übergehen wir, nachdem die ähnlichen Schwierigkeiten beim Benzol klargelegt sind.

mischung eines durch gewogenes Chloroform von konst. Temperatur[1]) gepreſsten konstanten Luftstroms, Mischung der Kastenluft durch einen Elektroventilator[2]) sind in der Arbeit über Benzol genügend geschildert, hier genügt es zu sagen, daſs die Methodik ganz die gleiche war. Das Tier war tracheotomiert, atmete durch ein mit Wasser gefülltes Inspirationsventil aus dem Kasten und exspirierte durch vier Alkoholflaschen. Gröſsere Tiere (Kaninchen von ca. 3 Kilo) vertragen diese Versuchsanordnung 4 Stunden lang sehr gut. Unsere Meinung, daſs man Tiere eine so lange Atemanstrengung durch die Ventilatmung nicht zumuten könne, erwies sich erfreulicherweise als irrig. Eine auf diese Voraussetzung gegründete Methode (das Tier atmet abwechselnd eine Stunde ausserhalb des Kastens durch Ventile — während dieser Zeit wird die Chloroformausscheidung bestimmt — und eine Stunde im Kasten ohne Ventile — während dieser Zeit wird nichts bestimmt) erwies sich als ganz unglücklich, denn bei dem Hineinschieben und Herausnehmen des Tieres aus dem Glaskasten kam es stets zu Konzentrationsverlusten der Kastenluft und dadurch zu schweren Unsicherheiten der Berechnung. Diese Methode war aber auch überflüssig, und die schönen Resultate der bei ständigem Aufenthalt des Tiers auſserhalb des Kastens und beständiger Ventilatmung ausgeführten Versuche bewiesen, daſs wir eine einwandfreie Methode gefunden hatten.

Die Resultate der fünf groſsen Versuche geben folgende fünf Tabellen:

---

1) Chloroform kühlt sich beim Luftdurchleiten erheblich ab, der Tierversuch begann erst sowie die Temperatur konstant geblieben war, und einige Wägungen die Konstanz der verdunstenden Mengen in der Zeiteinheit bewiesen.

2) Die Notwendigkeit der Luftmischung durch den Ventilator ist wenigstens, so lange keine besondere Mischflasche vor den Versuchskasten geschaltet wird, auch für die Chloroformversuche vielfach von uns gezeigt worden.

Tabelle IV.

Chloroformversuch am Tier ohne Tracheotomie (Röhrchen in der Nase) **mit einer Dosis von ca. 20 mg.**

14. September 1909.

Tiergewicht	Gesamtdauer 5 Stunden	Periode	Berechneter Gehalt in mg	Exspir.-Volumen in l		Chloroformmenge eingeatmet in mg	Chloroform ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in % der Inspiration	Nachträglich ausgeschied. $CHCl_3$		In % des nach 5 Std. im Körper verbliebenen
				im Intervall	pro 1 Std.					total in mg	mg pro l	
2850	1. Stunde	10^{45}—11^{00}	21	8,9	30	186,9	129,8	57,1	30,6			
		11^{00}—11^{15}	21	6,2		130,2	95,8	34,4	26,3			
		11^{15}—11^{30}	19,1	7,2		137,5	102,8	34,7	25,3			
		11^{30}—11^{45}	19,1	7,7		147,0	109,8	37,2	25,4			
	2. Stunde	11^{45}—12^{15}	19,1	15,0	33	286,5	217,0	69,5	24,3			
		12^{15}—12^{45}	17,8	17,9		318,6	264,0	54,6	17,2			
	3. Stunde	12^{45}—1^{15}	17,8	19,4	33,1	345,3	305,2	40,1	11,7			
		1^{15}—1^{45}	19,3	18,7		264,4	234,5	29,9	11,4			
	4. Stunde	1^{45}—2^{15}	17,7	14,4	29,4	254,8	244,0	10,8	4,3			
		2^{15}—2^{45}	17,7	15,0		265,5	252,8	12,7	4,8			
	5. Stunde	2^{45}—3^{45}								75,7		19,8
						2336,7	1955,7	381,0				

Tabelle V. **Chloroformversuch mit einer Dosis von ca. 21 mg.**

2. August 1909.

Tiergewicht	Gesamtdauer 12 Stunden	Periode	Berechneter Gehalt in mg	Gefundener Gehalt in mg	Exspir.-Volumen in l im Intervall	Chloroformmenge eingeatmet in mg	Chloroform ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in % der Inspiration	Nachträglich ausgeschied. $CHCl_3$ total in mg	Nachträglich ausgeschied. $CHCl_3$ mg pro l	In % des im Körper verbliebenen
2400 g	1. Stunde	9^{00}—9^{15}	22		11,8	259,6	183,0	76,6	30			
		9^{15}—9^{30}	22		11,2	246,4	173,9	72,5	30			
		9^{30}—9^{45}	22		10,1	222,2	156,8	65,4	30			
		9^{45}—10^{00}	22		9,0	198,0	139,9	58,1	30			
	2. Stunde	10^{00}—10^{30}	20,2	19,3	17,3	349,4	274,6	74,8	21,4			
		10^{30}—11^{00}	20,2	19,3	18,5	373,7	307,3	66,4	18			
	3. Stunde	11^{00}—11^{30}	20,2	19,3	18,6	375,7	340,1	35,6	10			
		11^{30}—12^{00}	20,2	19,3	19,9	401,9	372,7	29,2	8			
	4. Stunde	12^{00}—12^{30}	21	20,9	20,8	426,3	405,5	20,8	5			
		12^{30}—1^{00}	21	20,9	21,2	445,2	431,6	13,6	4			
	5. Stunde	1^{00}—2^{00}	21	20,9	41,0	861,0	811,1	49,9	6			
	6. Stunde	2^{00}—3^{00}	21	20,9	40,0	840,0	813,3	26,7	4			
	7. Stunde	3^{00}—4^{00}	21	19,5	42,0	882,0	835,0	47,0	5			
	8. Stunde	4^{00}—5^{00}	21	19,5	43,7	917,7	893,9	23,8	2			
	9. Stunde	5^{00}—6^{00}			38,3	6799,1	6138,7	660,4		172,5	1,5	26
	10. Stunde	6^{00}—7^{00}			38,1					73,1	1,9	11
	11. Stunde	7^{00}—8^{00}			38,0					22,1	0,6	3,3
	12. Stunde	8^{00}—9^{00}			41,6					7,7	0,18	1,0
												0,5 hypothetisch
												0,5 hypothetisch
										275,4		42,0

Tabelle VII.

Chloroformversuch mit einer Dosis von 54 mg. 5. August 1909.

Tiergewicht in g	Gesamtdauer 10 Stunden	Periode	Berechneter Gehalt in mg	Gefundener Gehalt in mg	Exspir.-Volumen in l: im Intervall	Exspir.-Volumen in l: pro 1 Std.	Chloroformmenge eingeatmet in mg	Chloroformmenge ausgeschieden in mg	Chloroform absorbiert in mg	Absorbiert in %	Nachträglich ausgeschiedenes $CHCl_3$: total	Nachträglich ausgeschiedenes $CHCl_3$: pro 1	In % des im Tier verbliebenen
4010	1 Std.	10^{00}—10^{15}	54,1	54,7	16,0	65,4	865,6	523,2	342,4	39,6			
		10^{15}—10^{30}	54,1		13,0		703,3	476,0	227,3	32,4			
		10^{30}—10^{45}	54,1		17,0		919,7	667,1	252,6	27,5			
		10^{45}—11^{00}	54,1		19,4		1049,5	771,7	277,8	26,5			
	2 Std.	11^{00}—11^{30}	54,1		33,6	67,6	1817,7	1491,4	326,3	18,0			
		11^{30}—12^{00}	54,1		34,0		1839,4	1491,3	348,1	19,0			
	3 Std.	12^{00}—12^{30}	54,7		32,7	63,0	1788,6	1475,8	312,8	16,6			
		12^{30}—1^{00}	54,7		30,3		1657,4	1428,6	228,8	13,8			
	4 Std.	1^{00}—1^{30}	54,1	52,3	23,6	51,0	1244,3	1140,8	103,5	8,4			
		1^{30}—2^{00}	54,1		28,0		1514,8	1310,5	204,3	14,0			
	5 Std.	2^{00}—3^{00}			60,0	60,0					497,0		18,9
	6 Std.	3^{00}—4^{00}			59,0	59,0					413,2		15,7
	7 Std.	4^{00}—5^{00}			56,0	56,0					313,8		11,9
	8 Std.	5^{00}—6^{00}			63,0	63,0					261,5		9,9
	9 Std.	6^{00}—7^{00}			73,0	73,0					209,2		7,9
	10 Std.	7^{00}—8^{00}			66,0	66,0					117,5		4,4
													2,2 } hypothetisch
													1,1
													0,5
													0,5
							13400,3	10776,4	2623,9		1812,2		72,1

Tabelle VIII.

Chloroformversuch mit einer Dosis von ca. 80 mg. 7. August 1909.

Tier-gewicht in g	Gesamt-dauer 10 Stunden	Periode	Berech-neter Gehalt in mg	Ge-fundener Gehalt in mg	Exspir.-Volumen in l		Chloro-form-menge ein-geatmet in mg	Chloro-form-menge ausge-schieden in mg	Chloro-form ab-sorbiert in mg	Absor-biert in %	Nachträglich ausgeschiedenes $CHCl_3$		In % des im Tier ver-bliebenen
					im Inter-vall	pro 1 Std.					total	mg pro l	
3150	1 Std.	10^{00}—10^{15}	76,0	74,8	10,35	43,5	786,6	478,7	307,9	39,2			
		10^{15}—10^{30}	76,0		10,7		813,2	557,2	256,0	31,5			
		10^{30}—10^{45}	76,0		10,0		760,0	544,1	215,9	28,5			
		10^{45}—11^{00}	76,0		12,5		950,0	745,6	204,4	21,6			
	2 Std.	11^{00}—11^{15}	79,0		12,2	38,5	963,8	766,5	197,3	20,5			
		11^{15}—11^{30}	79,0		10,5		829,5	727,3	102,2	12,4			
		11^{30}—11^{45}	80,0	77,7	8,3		664,0	577,7	86,3	13,0			
		11^{45}—12^{00}	79,6		7,5		597,0	578,2	18,8	3,2			
	3 Std.	12^{00}—12^{30}			19,3	40,0					169,9	7,7	12,2 } 22,1
		12^{30}—1^{00}			20,7						138,0		9,9
	4 Std.	1^{00}—2^{00}			38,7	38,7					230,2	5,9	16,5
	5 Std.	2^{00}—3^{00}			44,8	44,8					214,3	4,7	15,4
	6 Std.	3^{00}—4^{00}			53,2	53,2					156,8	2,9	11,2
	7 Std	4^{00}—5^{00}			50,8	50,8					91,5	1,8	6,5
	8 Std.	5^{00}—6^{00}			50,7	50,7					54,8	1,7	3,9
	9 Std.	6^{00}—7^{00}			49,3	49,3					26,0	0,5	1,8
	10 Std.	7^{00}—8^{00}			47,2	47,2					12,9	0,2	0,9
													0,5
													0,5
							6364,1	4975,8	1388,8		1094,5		89,3

1. Es scheint für die Absorption gleichgültig, ob das Tier durch eine Trachealkanüle oder durch in die Nase befestigte Schläuche bei geschlossenem Mund atmet. Der Versuch 1 und 2, welche beide mit 20 mg Chloroform angestellt sind, ergeben unter sich ein außerordentlich ähnliches Bild. Die Absorption beginnt mit 27—30%, beträgt am Ende der zweiten Stunde etwa 20%, sinkt in der dritten auf ca. 10, in der vierten auf rund 5%. Wir legen natürlich keinen allzugroßen Wert auf die Schwankungen der Absorption um einige Prozente. Ich glaube, daß die recht regelmäßigen Kurven, welche wir gezeichnet haben, und die in anderem Zusammenhang dissertiert werden sollen, zeigen, daß prinzipiell unsere Methoden gut und zufriedenstellend arbeiten; Fehler von einigen Prozenten dürften wohl unbeachtet bleiben.

2. Die Absorption der höheren Konzentrationen, 54 und 74%, verläuft gänz ähnlich wie die der schwächeren, nur wird in der allerersten Viertelstunde etwas mehr, ca. 40%, absorbiert, aber schon nach 1/4 Stunde haben wir auch hier Absorptionen von 32 und 31%. In dem Versuch mit 54 mg im Liter ist am Schluß der dritten Stunde und am Anfang der vierten noch eine Absorption von 8—14% zu beobachten, in dem Versuch mit 76—80 mg im Liter ist am Ende der zweiten Stunde (länger wurde hier nicht untersucht) auch eine Absorption zwischen 3 und 13% beobachtet. Natürlich hat eine kleine Anderung der Konzentration der Inspirationsluft gleich zur Folge, wenn sie nicht rechtzeitig bemerkt wird, daß die Absorptionsprozente um einige Prozente ungenau werden. Für den Zweck unserer Untersuchungen ist dies aber ohne jede Bedeutung.

3. Vergleichen wir die absorbierten Mengen mit denen beim Menschen zu Absorptionen gelangten, so fällt auf, daß wir beim Menschen in der ersten Viertelstunde, halben Stunde, ja Stunde Absorptionen zwischen 80 und 60% gefunden haben, daß dagegen die höchste beim Kaninchen in der ersten Viertelstunde beobachtete Absorptionszahl 40% nicht überstieg. Wir dürfen bemerken, daß auch in früheren, von uns als nicht ganz zuverlässig betrachteten und deshalb kassierten Versuchen wir nie eine höhere Absorption beim Kaninchen als 60% beobachtet

haben. In den früheren Versuchen von Lehmann und seinen Schülern ist mehrfach hervorgetreten, dafs der Mensch eine stärkere Absorption während kurzer Versuchszeit fertigbrachte als Kaninchen. Es ist dies nicht ohne weiteres zu erklären. Man sollte vielmehr das Gegenteil erwarten. Da bei der Kugel die Oberfläche nur im Quadrat, der Inhalt aber im Kubus des Radius wächst, so ist bei der gröfseren Lunge des Menschen das Verhältnis von absorbierender Oberfläche zum umschlossenen Inhalt entschieden als ungünstiger vorauszusehen. Um die stärkere Absorption durch den Menschen erklären zu können, mufs noch irgendein Umstand anatomischer oder physiologischer Art mitspielen, den wir nicht kennen. Zum Beispiel könnte die menschliche Lunge stärker durchblutet sein als die Tierlunge, oder komplizierter gelappt sein.

4. Vom praktischen Gesichtspunkt erscheint es sehr interessant, dafs für die bei uns angewandten Dosen, die zum Teil erheblich unter den zur chirurgischen Narkose verwandten liegen, eine annähernde Sättigung des Körpers nach ungefähr 2—3 Stunden mit Chloroform eintritt. Die kleinen Mengen, die dann noch aufgenommen werden, einige Prozente, können leicht dem entsprechen, was der Körper im Harn auszuscheiden oder durch Stoffwechselprozesse wegzuschaffen vermag. Über das Schicksal des Chloroforms im Körper haben wir keine eigenen Beobachtungen bisher angestellt.

5. Sehr interessant dürfte auch unser Resultat sein über die Ausscheidung des Chloroforms nach Aufhören der Chloroformatmung. Es sind 42—90% des als absorbiert berechneten Chloroforms nach dem Versuche wieder ausgeschieden gefunden worden. Also gibt es mindestens einzelne Individuen, welche unter den Bedingungen einer chirurgischen Narkose kaum Chloroform zu Chlornatrium verwandeln. Die vollständigste Ausscheidung in der Nachperiode (90% des aufgenommenen) wurde in dem Versuche erhalten, wo nach nur 2stündiger Chloroformaufnahme die Ausscheidung studiert wurde, 72% wurden erhalten als nach 3½stündiger Aufnahme die Ausscheidung studiert wurde, nur 42% wurden nach 9stündiger Aufnahme ausgeschieden. Dies

ist ein sicherer Beweis dafür, dafs während langdauernder Zufuhr unter Bedingungen, wo die Chloroformabgabe durch die Lunge gestört ist, allmählich Chloroform verschwindet, d. h. wohl zu Chlornatrium wird, dafs dieser Prozess aber sehr langsam verläuft.

Wir sind noch für zwei Gase, für den Tetrachlorkohlenstoff und für das Tetrachloräthan, in der Lage, ähnliche Berechnungen wie für das Chloroform auszuführen, was im folgenden geschehen soll.

Tabelle IX.

Tetrachlorkohlenstoffversuch mit einer Dosis von 50 mg.

7. September 1909.

Tiergewicht in g	Perioden Gesamtdauer 9 Std.	Berechneter Gehalt in mg	Gefundener Gehalt in mg	Exspir.-Vol. in l	Tetrachlorkohlenstoff eingeatmet in mg	Tetrachlorkohlenstoff ausgeschieden in mg	Tetrachlorkohlenstoff absorbiert in mg	Absorbiert in % des Inspirierten		Nachträglich ausgeschieden in mg	In % des im Körper verbliebenen
3050	10^{00}—10^{15}	50	49,6	13,9	695,0	454	241	34,7	22,4		
	10^{15}—10^{30}	50		11,5	575,0	420	155	26,9			
	10^{30}—10^{45}	50		11,0	550,0	461	89	16,1			
	10^{45}—11^{00}	50		12,0	600,0	528	72	12,0			
	11^{00}—11^{30}	51		24,4	1241,4	1123	121	9,7	6,3		
	11^{30}—12^{00}	50		20,8	1040,0	1009	31	3,0			
	12^{00}—12^{30}	50		22,2	1110,0	1110	—	—			
	12^{30}—1^{00}	50		24,0	1200,0	1144	56	4,7			
	1^{00}—2^{00}									345	45,0
	2^{00}—3^{00}									135	17,6
	3^{00}—4^{00}									54	7,0
	4^{00}—5^{00}									30	3,9
	5^{00}—6^{00}									20	2,6
	6^{00}—7^{00}									20	2,6
					7014,4	6249	765			604	78,7

Der Tetrachlorkohlenstoff, der in reichlicher Dosis dargeboten wurde, zeigte eine starke Abnahme der Absorption mit der Zeit. In der ersten Stunde war die Absorption 34,7, in der vierten nur 12,0% gesunken, in der zweiten Stunde sank sie auf 6,3, in der dritten auf 4,7%. Das Resultat war sehr ähnlich dem analogen Versuche mit Chloroform. Von dem absorbierten Gase erscheinen 78,7% nachträglich in der Exspirationsluft wieder — auch ein Resultat, das ein Analogon zu Chloroformversuchen darstellt.

Tabelle X.

Tetrachloräthanversuch mit einer Dosis von 9 mg.

10. September 1909.

Tiergewicht in g	Perioden Gesamtdauer 7 Stunden	Berechneter Gehalt in mg	Exspir.-Vol. in l	Tetrachloräthan eingeathmet in mg	Tetrachloräthan ausgeschieden in mg	Tetrachloräthan absorbiert in mg	Absorbiert in %		Nachträglich ausgeschieden in mg	In % des im Körper verbliebenen
2910	10^{15}—10^{30}	9,1	12,0	109,2	60,6	48,6	44,5	30		
	10^{30}—10^{45}	9,1	11,0	100,1	66,0	34,1	34,0			
	10^{45}—11^{00}	9,1	11,0	100,0	78,8	21,2	21,2			
	11^{00}—11^{15}	9,1	9,0	81,9	63,6	18,3	22,4			
	11^{15}—11^{45}	9,1	16,0	145,6	103,8	41,8	28,8			
	11^{45}—12^{15}	9,0	15,0	135,0	96,3	38,7	28,7			
	12^{15}—12^{45}	9,0	13,0	117,0	87,1	29,9	25,6			
	12^{45}—1^{15}	9,0	10,5	94,5	68,8	25,7	27,2			
	1^{15}—2^{15}								34,9	13,5
	2^{15}—3^{15}								11,0	4,2
	3^{15}—4^{15}								3,6	1,3
	4^{15}—5^{15}								1,6	0,6
				883,3	625,0	258,3			total 51,1	19,6

Das Tetrachloräthan wurde — seiner geringen Flüchtigkeit wegen — nur in einer Menge von 9 mg dargeboten, die Absorption sank von 44,5 in der ersten Viertelstunde auf 27,2% in der achten, einigemal wurde sogar nur 21 und 22% absorbiert. Auffallend ist, wie wenig — nur 19,6 der vom Tier absorbieten Menge — nachträglich wieder ausgeschieden wurde.

Indem wir die bisherigen Resultate publizieren, teilen wir mit, dafs der eine von uns (Lehmann) aus den hier publizierten und einer Reihe neuer Versuche einige theoretische Berechnungen abgeleitet hat, die den Gegenstand einer weiteren Arbeit bilden werden.

Über die Absorption von Salzsäuredämpfen durch das Tier in länger dauernden Versuchen.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann** und Dr. **Arthur Burck**[1])
aus Neuhausen a. d. F.

(Aus dem Hygienischen Institut in Würzburg.)

Die Versuche von Lehmann und Yamada[1]) über die Absorption verschiedener wasserlöslicher Säuredämpfe (Salzsäure, schweflige Säure, Essigsäure) durch Tier und Mensch waren alle nur während kurzer Versuchszeiten angestellt. Sie dauerten 15 bis 60 Min., es sind nie mehrere vergleichbare Perioden aneinander angeschlossen worden. Die Versuchsanordnung war so, dafs die Tiere durch eine Flasche einatmeten, welche wenige, sehr genau abgemessene ccm einer starken Salzsäure enthielt und die als Müllersches Inspirationsventil funktionierte. Die Exspiration des Tieres fand durch chlorfreie Natronlauge statt, deren Chlorgehalt nach der Volhardschen Methode bestimmt wurde. Die Tiere waren teils tracheotomiert, teils waren ihnen kleine Bambusröhrchen durch einige Nähte in der Nase befestigt. Die aufgenommene Säuremenge wurde dadurch bestimmt, dafs man ermittelte, wie viel Säure aus dem Inspirationsventil weggegangen war und von dieser Menge die Säuremenge subtrahierte, welche im Exspirationsventil gefunden wurde. In zehn nach

---

1) Ausführliche Protokolle über alle Versuche bringt die Dissertation von A. Burck. Würzburg 1910.

2) K. B. Lehmann, Dieses Archiv, LXVII.

dieser Methode ausgeführten Tierversuchen wurde eine Absorption des eingeatmeten Salzsäuredampfes zwischen 59 und 75% gefunden, in der Mehrzahl der Fälle wurden Zahlen um 65% herum erhalten. Eine Abhängigkeit der Höhe der prozentualen Absorption von der Zeitdauer des Versuchs und von der Konzentration war nicht deutlich aus den Versuchsresultaten zu erkennen.

Nachdem im hiesigen Institut in letzter Zeit chronische oder wenigstens stundenlange Absorptionen ätherischer Dämpfe (Benzol, Chloroform usw.) nach einer bequemen Methode ausgeführt waren, die ein starkes Absinken der absorbierten Mengen zum Teil bis auf wenige Prozente in 3—4 Stunden ergaben, erschien es wünschenswert, auch mit einem wasserlöslichen Gase ähnliche Versuche zu machen. Wir wählten die Salzsäure als bequem zu handhabende Substanz, die Methodik war der der Chloroformversuche nachgebildet, alle Versuche sind am tracheotomierten nicht narkotisierten Kaninchen gemacht.

Zur Herstellung eines Salzsäureluftgemisches von möglichst gleichmäfsiger Zusammensetzung verfuhren wir nach manchem Probieren folgendermafsen. Es wurde durch Einfliefsenlassen von konzentrierter Schwefelsäure in rauchende Salzsäure Salzsäuregas erzeugt und das Gas nach möglichster Verdrängung der Luft aus dem Entwicklungskolben in einem Paraffinölgasometer aufgefangen. Das Paraffinöl nimmt zwar allmählich gewisse Mengen Salzsäuregas auf, bewährt sich aber im grofsen und ganzen sehr gut. Der Salzsäuregasvorrat wurde nun in Mengen von etwa 500 ccm bis 2 l pro Stunde aus dem Gasometer (I) ausströmen lassen. Das durch Paraffinöl verdrängte Gas wird in eine Mischflasche II geprefst, durch die Mischflasche saugte eine Wasserstrahlluftpumpe einen zunächst gemessenen Frischluftstrom (Gasuhr III), die Frischluft belud sich bei dieser Gelegenheit in der Mischflasche II mit Salzsäuregas und passierte nun einen liegenden etwa 20 l fassenden Glaszylinder, sodann einige Absorptionsgefäfse mit Lauge (IV) und strömte dann aus der Saugpumpe in die Zimmerluft aus. Wenn der Versuch eine halbe Stunde im Gang war, durfte man annehmen, in dem

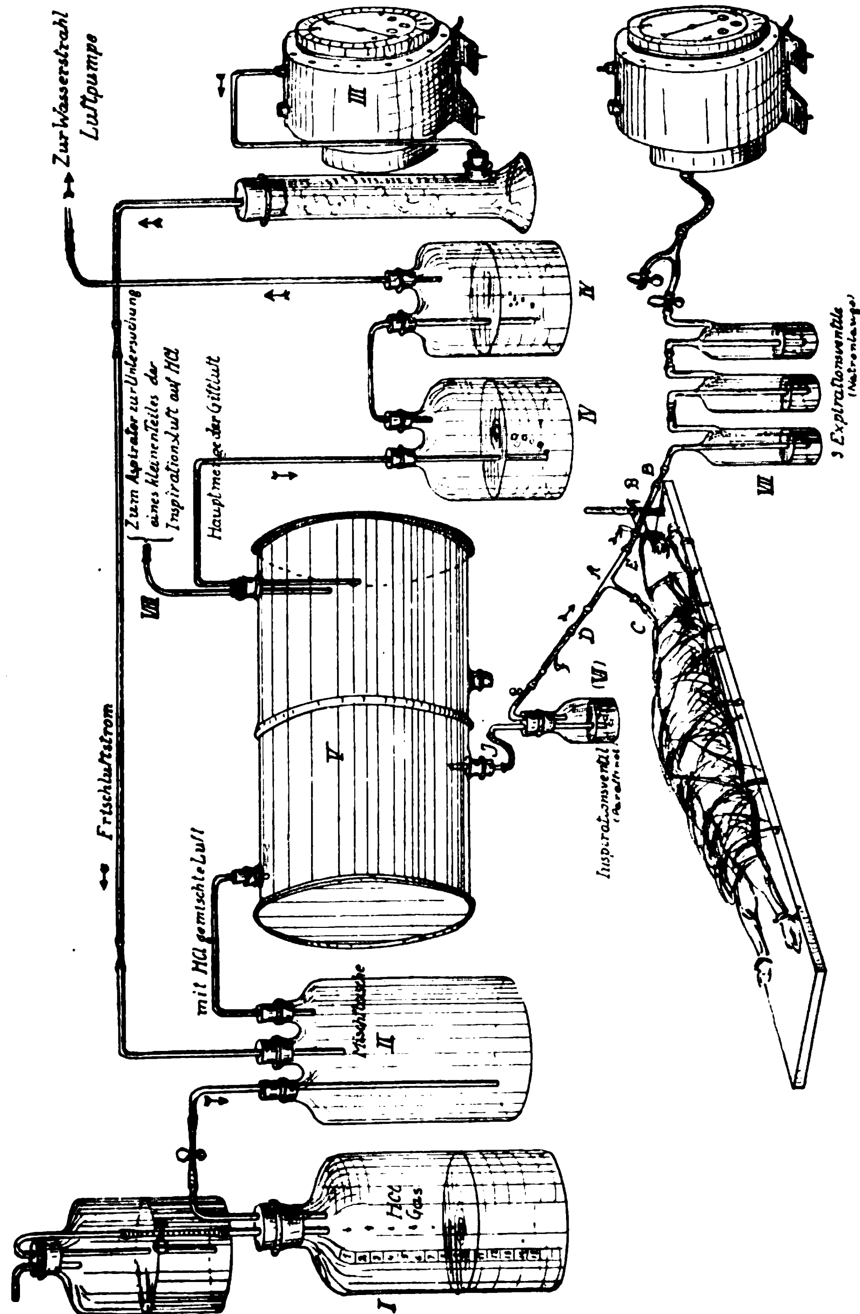

Zur Wasserstrahl Luftpumpe
Frischluftstrom
mit HCl gemischte Luft
Mischflasche
HCl Gas
Hauptmenge der Giftluft
Zum Aspirator zur Untersuchung eines kleinen Teiles der Inspirationsluft auf HCl
Inspirationsventil (Paraffinöl)
3 Exspirationsventile (Natronlauge)
I
II
III
IV
V
VI
VII

Fig. 1.

grofsen Glaszylinder (V) einen annähernd konstanten Salzsäuregehalt zu haben. Dann schlofs man durch ein kleines Glasrohr und ein mit Paraffinöl gefülltes Müllersches Inspirationsventil (VI) ein tracheotomiertes Kaninchen an. Die Exspiration fand durch ein Seitenrohr der Kanüle durch drei hintereinander geschaltete, mit chlorfreier Natronlauge (etwa 40—60 ccm) gefüllte Müllersche Exspirationsventile VII statt. Es war so die Inspirationsluft von der Exspirationsluft so gut wie möglich getrennt. Da hinter den Exspirationsventilen eine Gasuhr angeschlossen war, welche die Exspirationsluft des Tieres mafs, so konnte die pro l ausgeschiedene Salzsäuremenge bestimmt werden.

Berechnung der vom Kaninchen inspirierten HCl-Menge: Bekannt ist das Volum der Inspirationsluft durch Messung der Exspirationsluft, die Wassermenge der Gasuhren reicht aus, die Temperaturdifferenzen und die daraus entspringenden Fehler zu beseitigen. Der Gehalt der Inspirationsluft war leicht im groben zu ermitteln, indem man aus dem grofsen Glaszylinder durch Aspiratoren fortwährend besondere Luftproben (mittels Leitung VIII) durch Natronlauge saugte und so deren Gehalt bestimmte. Nun sind aber an dem Gehalt der In- und Exspirationsluft noch Korrekturen anzubringen. Das Tier atmet in Wirklichkeit eine Luft ein, von etwas schwächerem Gehalt als es für die Inspirationsluft durch die eben beschriebene Versuchsanordnung gefunden wurde, denn es bleibt in dem Inspirationsventil VI und den Zuleitungsröhren *(J G E D)* eine gewisse Menge Säure zurück. Ich bestimmte deshalb die sich hier ansammelnde Menge, rechnete sie auf 1 l Inspirationsluft um und zog diesen Gehalt von dem direkt gefundenen Salzsäuregehalt der Inspirationsluft ab. Es gelang in den späteren Versuchen durch Trocknen der der Salzsäure beigemischten Luft die Menge der im Paraffinöl und den Zuleitungsröhrchen zurückbleibenden Salzsäurebestandes so gering zu gestalten gegenüber dem Salzsäuregehalt der Inspirationsluft, dafs diese erste Korrektion kaum etwas ausmacht.

Eine weitere Korrektur des Gehalts der Inspirationsluft wurde dadurch nötig, dafs sich in dem T-Stück *(A)* ein nicht ganz unerhebliches Kondensat bildete, das ermittelt und zu gleichen

Teilen auf die in der Periode ein- und ausgeatmete Luft verteilt wurde. Die eine Hälfte wurde vom Gesamtsalzsäuregehalt der Inspirationsluft subtrahiert, die andere Hälfte zum Gesamtgehalt der Exspirationsluft addiert.

Bestimmung der vom Tier ausgeatmeten Salzsäuremengen: Durch Titrieren der Exspirationsvorlagen (VII) erhält man den absoluten, durch Division durch das Volum den prozentischen Gehalt der Exspirationsluft. Es mufs dann addiert werden der Gehalt in den Verbindungsstücken *E* und *B* und — wie vorhin erwähnt — die Hälfte des im T-Stück niedergeschlagenen.

Diese Korrekturen sind nun in den einzelnen Versuchsgruppen etwas verschieden ermittelt worden.

In Versuch I, II, III, IV, V, VI wurde genau mit der abgebildeten Versuchsanordnung gearbeitet — aber in zwei Modifikationen:

I. Anordnung. (Versuch I, II, III.)

Es wurden nur in jeder Versuchsperiode die Exspirationsventile gewechselt. Das Inspirationsventil und die Verbindungsröhren inkl. T-Stück dienten für alle Perioden gemeinsam, ihr Inhalt wurde auf die Perioden nach Mafsgabe des Atemvolums einer jeden verteilt.

II. Anordnung. (Versuch IV—VI.)

Es wurden aufser den In- und Exspirationsventilen auch für jede Periode T-Stück und Schaltstücke erneuert. Es war dies kein Vorteil.

III. Anordnung.

In Versuch VII—XIV wurden die T-Stücke langschenklicher genommen. Der abführende Schenkel des Inspirationsventils war mit dem T-Stück verschmolzen, die beiden anderen Schenkel desselben standen nur durch je ein kleines Gummistück mit der Kanüle und den Exspirationsventilen in Verbindung. Die zu- und abführenden längeren Glasschenkel konnten durch Bestreichen mit der Flamme fast trocken gehalten, die Korrekturen sehr klein gemacht werden. Ein Wechsel der T-Stücke schien bei den Versuchen VII—XIV in den einzelnen Perioden überflüssig.

Indem wir für die übrigen ausführlichen Protokolle und die im einzelnen durchgeführten Korrektionsrechnungen auf die Dissertation von Dr. Burck verweisen, geben wir nur für zwei Versuche die Berechnungen wieder.

Versuch III (nach Versuchsanordnung I).

Ein Kaninchen von 2100 gr wurde tracheotomiert. Dauer der Perioden 15 Min. Tier während der ersten Viertelstunde ziemlich ruhig, Atmung gleichmäfsig, mittelkräftig. Zu Beginn der zweiten Viertelstunde krampfhafte Zuckungen, Respiration etwas unregelmäfsig, langsamer, oberflächlicher. Krämpfe lassen nach, Atmung besser, Tier erholt sich bis zum Beginn der dritten Viertelstunde wieder. Während der nächsten Perioden keine Krämpfe mehr. Tier atmet ziemlich ruhig und gleichmäfsig. Mitte der fünften Periode einige Zuckungen. Atmung wird langsamer, Zuckungen werden häufiger und stärker. Zu Beginn der sechsten Viertelstunde Tier wieder ruhiger, doch bleibt die Atmung ziemlich langsam und oberflächlich.

Das Tier wurde nach Beendigung des Versuches getötet.

Untersuchung der Inspirationsluft.

I. 12 Uhr—12 Uhr 30 Min. in 15 l 78,1 mg H Cl, also 5,2 mg Salsäure pro l.
II. 12 Uhr 30 Min.—1 Uhr in 20 l 114,6 mg H Cl, also 5,72 mg H Cl pro l.
III. 1 Uhr—1 Uhr 30 Min. in 15 l 70,5 mg H Cl, also 4,7 mg H Cl pro l.

In den ausschliefslich der Inspiration dienenden Schaltstücken und dem Inspirationsventil fanden sich in 26,3 l 16,32 mg H Cl, d. h 0,62 mg pro 1 l.

Untersuchung der Exspirationsluft.

Periode	Periode	Respirationszahl	Respirationsvolumen in l
I.	12 Uhr — Min. bis 12 Uhr 15 Min.	60 60 56	5,9
II.	12 Uhr 15 Min. bis 12 Uhr 30 Min.	48 48 40	2,4
III.	12 Uhr 30 Min. bis 12 Uhr 45 Min.	48 54 60	4,5
IV.	12 Uhr 45 Min. bis 1 Uhr — Min.	48 48 48	6,2
V.	1 Uhr — Min. bis 1 Uhr 15 Min.	46 44 44	4,1
VI.	1 Uhr 15 Min. bis 1 Uhr 30 Min.	44 40 44	3,2
			26,3

Die Titrierung der Exspirationsvorlagen ergab:

I. 6,28 mg Salzsäure.
II. 1,35 mg Salzsäure.
III. 3,45 mg Salzsäure.
IV. 5,09 mg Salzsäure.
V. 1,71 mg Salzsäure.
VI. 1,34 mg Salzsäure.

In den beiden Schenkeln des T-Stückes fanden sich aber leider 48 mg H Cl = 1,4 mg pro l Exspirationsluft, deren Verteilung auf die Exspiration und Inspiration immer willkürlich bleibt.

Berechnung und Resultate.

Infolge der Korrektur sind nun von dem Gehalt der Inspirationsluft pro l 0,70 + 0,62 (aus Inspirationsröhren) = 1,32 mg zu subtrahieren, zum Gehalt der Inspirationsluft aber 0,70 mg pro l zu addieren.

I 5,9 · (5,2—1,37) = 23 mg H Cl in der Inspirationsluft.
6,3 + (5,9 · 0,70) = 10,4 mg H Cl in der Exspirationsluft.
22,5—10,4 = 2,1 mg H Cl oder 53,7 % Absorption.
II. 2,5 · (5,2—1,37) = 9,67 mg H Cl in der Inspirationsluft.
1,41 + (2,4 · 0,70) = 3,1 mg H Cl in der Exspirationsluft.
9,5—3,21 = 6,4 mg H Cl oder 67,3 % Absorption.
III. 4,5 · (5,7—1,37) = 19,5 mg H Cl in der Inspirationsluft.
3,45 + (4,5 · 0,70) = 6,6 mg H Cl in der Exspirationsluft.
19,5—6,6 = 12,9 mg H Cl oder 66 % Absorption.
IV. 6,2 · (5,7—1,37) = 26,6 mg Salzsäure in der Inspirationsluft.
5,1 + (6,2 · 0,70) = 9,4 mg H Cl in der Exspirationsluft.
26,6—9,4 = 17,2 mg H Cl oder 64,6 % Absorption.
V. 4,1 · (4,7—1,37) = 13,5 mg H Cl in der Inspirationsluft.
1,71 + (4,7 · 0,70) = 5,0 mg H Cl in der Exspirationsluft.
13,5—5,0 = 8,5 mg H Cl oder 69 % Absorption.
VI. 3,2 · (4,7—1,37) = 10,6 mg H Cl in der Inspirationsluft.
1,34 + (3,2 · 0,70) = 3,6 mg H Cl in der Exspirationsluft.
10,6—3,6 = 7,0 mg H Cl oder 66 % Absorption.

Betrachten wir nun alle sechs Perioden zusammen, so ergibt sich:

Gesamtinspiration 102,2 mg Salzsäure.
Gesamtexpiration 38,1 mg Salzsäure.
Gesamtabsorption 64,1 mg Salzsäure oder 62,7 %.

Einfacher und viel sicherer — weil die Korrekturen klein sind — gestaltet sich die Ausrechnung eines Versuchs nach Versuchsanordnung III. Wir teilen als Beispiel mit

Versuch IX (Versuchsanordnung III).

Ein sehr kräftiges Kaninchen von 3000 g wurde tracheotomiert. Versuchsanordnung: Drei Perioden von einer halben Stunde. Tier während der ersten halben Stunde etwas unruhig, erholt sich wieder im Laufe der zweiten.

Am Ende der dritten ist es wieder ziemlich ruhig. Zu Beginn der vierten halben Stunde einige heftige krampfhafte Zuckungen; Abnahme der Atemfrequenz, plötzlich unregelmäfsige, oberflächliche Atmung. Exitus unter krampfhaften Zuckungen.

Untersuchung der Inspirationsluft.

I. Von 3 Uhr 45 Min. bis 4 Uhr 15 Min. in 13 l 34,9 mg H Cl, somit 2,68 mg H Cl pro l.
II. Von 4 Uhr 15 Min. bis 4 Uhr 45 Min. in 13 l 37,4 mg H Cl, somit 2,87 mg H Cl pro l.
III. Von 4 Uhr 45 Min. bis 5 Uhr 10 Min. in 12 l 35,3 mg H Cl, somit 2,22 mg H Cl pro l.
IV. Von 5 Uhr 15 Min. bis 5 Uhr 30 Min. in 7 l 16,3 mg H Cl, somit 2,32 mg H Cl pro l.

Davon gehen ab aus Schaltstücken der Inspiration und dem Inspirationsventil für jede Periode:

I. 0,95 mg H Cl.
II. 0,42 mg H Cl.
III. 0,07 mg H Cl.
IV. 0,07 mg H Cl.

Untersuchung der Exspirationsluft.

Periode	Zeit	Respirationszahl	Respirationsvolumen in l
I.	3 Uhr 45 Min. bis 4 Uhr 15 Min.	56, 56, 52	12,0
II.	4 Uhr 15 Min. bis 4 Uhr 45 Min.	54, 66, 56	16,0
III.	4 Uhr 45 Min. bis 5 Uhr 15 Min.	60, 56, 60	14,6
IV.	5 Uhr 15 Min. bis 5 Uhr 25 Min.	52, 48	2,7

Die Titrierung ergab für die Exspirationsventile:

I. 5,9 mg H Cl.
II. 6,8 mg H Cl.
III. 5,7 mg H Cl.
IV. 2,1 mg H Cl.

In den Exspirationsschaltstücken fanden sich:

I. 1,64 mg H Cl.
II. 2,69 mg H Cl.
III. 4,50 mg H Cl.
IV. 1,09 mg H Cl,

die wie in den vorhergehenden Versuchen zwischen In- und Exspiration verteilt werden.

Berechnung und Resultate.

I. (12 · 2,68) — (0,95 + 0,82) = 30,4 mg H Cl in der Inspirationsluft.
5,9 + 0,82 = 6,72 mg H Cl in der Exspirationsluft.
30,4 — 6,72 = 23,68 mg H Cl oder 78 % Absorption.
II. (16 · 2,87) — (0,42 + 1,34) = 44,76 mg H Cl in der Inspirationsluft.
6,84 + 1 34 = 8,18 mg H Cl in der Exspirationsluft.
44,76 — 8,18 = 36,58 mg H Bl oder 81,5 % Absorption.
III. (14,6 · 2,94) — (0,07 + 2,26 = 40,56 mg H Cl in der Inspirationsiuft.
5,71 + 2,26 = 7,97 mg H Cl in der Exspirationsluft.
40,56 — 7,97 = 32,59 mg H Cl oder 80,5 % Absorption.
IV. (2,7 · 2,34) — (0,07 + 0,6) = 5,39 mg H Cl in der Inspirationsluft.
2,11 + 0,6 = 2,71 mg H Cl in der Exspirationsluft.
5,39 — 2,71 = 2,68 mg H Cl = 50 % Absorption.

Betrachten wir alle 4 Perioden zusammen, so ergeben sich:

Gesamtinspiration 121,2 mg H Cl.
Gesamtexspiration 25,6 mg H Cl.
Gesamtabsorption 95,6 mg H Cl oder 79 %.

Auf S. 352—354 folgen nun die Übersichtstabellen über alle unsere Versuche.

Bei Betrachtung derselben ergibt sich ein Schwanken der Absorption von 84 bis 17 %, doch ist diese letztere Zahl ganz isoliert und wohl unrichtig durch zu starke Korrekturen. Es ist auch die Dauer der einzelnen Absorptionsperioden sehr verschieden lang. Zur besseren Übersicht geben wir eine 2. Tabelle, in der die Absorptionswerte auf 1/2 Stunde und 1 Stunde gerechnet sind.

Aus den beiden Tabellen folgen eine Reihe klarer Gesetzmäfsigkeiten.

1. Die Absorption der Salzsäure bei tracheotomierten Kaninchen schwankt in der ersten Stunde zwischen 58 und 80 %, Werte um 63 sind am häufigsten. Atmete das Tier durch die Nase, so wäre die Zahl jedenfalls nicht niedriger, sondern höher.

Tabelle I.

Versuch No.	Kaninchen in g	Respiration: Frequenz	Respiration: Volumen in Liter	Dauer in Min.	Salzsäuregeh. d. Inspirationsluft pro L. in mg	Inspiration mg H Cl	Exspiration: mg H Cl	Exspiration: in %	Absorption: mg H Cl	Absorption: in %	Gesamt-inspiration mg H Cl	Gesamt-exspiration mg H Cl	Gesamtabsorption: mg H Cl	Gesamtabsorption: in %	Besondere Bemerkungen
		74	7	10	8	46,6	7,4	16	39,3	84					
		66	5,35	10		35,6	9,6	27	26	73					
I		56	7	10	8,86	52,6	18,4	34	34,3	65,5	263,1	92,5	170,6	65	
	2650	56	6,15	10		46,3	15,2	33	31,1	67					
		58	5,7	10	8,99	43,7	21	48	22,7	52					Zwischen diesem und dem nächsten Versuch kein Wechsel des Inspirationsventils und der Schaltstücke,
		52	5	10		38,3	21,1	55	17,2	45					
II		40	3,5	10	17	54,8	14,2	26	40,6	74	72	20,3	51,7	72	das Tier hat dagegen inzwischen zwei Stunden lang frische Luft geatmet.
		36	1,1	10		17,2	6	35	11,2	65					
		60	5,9	15	5,2	23,3	10,4	46,3	12,1	53,7					
		44	2,4	15		9,5	3,1	32	6,4	67,3					
III	2100	54	4,5	15	5,73	19,5	6,6	34	12,9	66	102,5	37,8	64,6	63	
		48	6,2	15		26,6	9,4	35,4	17,2	64,6					
		44	4,1	15	4,5	13,5	5,0	31	8,5	69					
		40	3,2	15		10,6	3,6	34,0	7,0	66					
IV	1800	74	29,5	60	2,4 0,9	33,3	13,6	41	19,4	59	43,7	22,3	21,3	49	
		64	29,1	60	0,83	10,4	8,7	83	1,4	17					
V	1700	44	8,7	60	1,87	6,6	1,92	42	2,65	58					Wert der Versuche IV, V und VI ziemlich zweifelhaft, da Kondensation im Inspirationsventil und in den Schaltstücken sehr grofs ist, während sich in den Exspirationsvorlagen sehr wenig findet. Versuch VI als unberechenbar weggelassen. Apparat geändert.
VII	2200	48	15,2	60	1,4 1,8	22,7	8,5	37,5	14,2	62,5	27,9	11,2	16,7	63	
		36	6,5	60	1,29 1,19	7	2,6	37	4,4	63					
VIII	2000	56	13	30	1,4	17,1	5,8	34	11,3	66	19,8	7,5	12,3	63	
		40	2,2	30	1,9	2,6	1,67	62	1,0	38					

Tabelle I (zweite Hälfte).

Versuch No.	Kaninchen in g	Respiration: Frequenz	Respiration: Volumen in Liter	Dauer in Min.	Salzsäuregeh. d. Inspirationsluft pro L. in mg	Inspiration mg HCl	Exspiration: mg HCl	Exspiration: in %	Absorption: mg HCl	Absorption: in %	Gesamtinspiration mg HCl	Gesamtexspiration mg HCl	Gesamtabsorption: mg HCl	Gesamtabsorption: in %	Besondere Bemerkungen
		54	12	30	2,68	30,4	6,7	22	23,7	78					
		60	16	30	2,87	44,8	8,2	18,5	36,6	81					
IX	3000	58	14,6	30	2,94	40,6	8,0	19,5	32,6	80,5	121	25,6	95,6	79	
		48	2,7	10	2,32	5,4	2,7	50	2,7	50					
		40	7,1	30	6,8	48	23,7	50	24,3	50					
		28	5,8	30	7,32	42,1	26,3	65	15,8	35					
X	2250	32	7,2	30	8,02	57,4	30,4	53	27,0	47	181,2	96,5	84,7	46,5	In den ersten Minuten kollapsartiger Abfall der Atemfrequenz. Tier erholt sich im Laufe des Versuchs. Dieser Versuch wurde in der Tabelle II und für das Schlufsresultat nicht berücksichtigt.
		28	5,6	30	6,07	33,6	16,1	48	17,6	52					
XI	2500	40	7,4	30	3,01	21,7	11,4	52	10,4	48					
		56	8	20	3,4	27,2	11,6	43	15,6	57					
		50	10,7	20		36,4	11,6	32	24,7	68					
		48	8,9	20	3,8	33,8	11,6	34,5	22,2	65					
XII	2200	48	9,2	20		34,9	12,7	36	22,1	64	188,6	70	118,6	63	
		46	8,2	20	3,8	31,6	10,9	35	30,26	65					
		45	6,6	20		25,1	11,6	46,5	13,5	53,5					
		46	4,7	15	5,3	24,3	9,4	38,5	14,9	61,5					
XIII	1950	30	3,7	15		19,0	11,2	58,5	7,9	41,5	59,7	30,7	29	48,5	
		24	3,2	15	5,3	16,4	10,1	61,5	6,3	38,5					
		42	4,2	15	6	24,9	8,6	34,5	16,3	65,5					
		40	4,6	15		27,3	8	29,5	19,3	70,5					
XIV	3250	44	4,2	15	6,4	26,6	13,2	50	13,4	50	131,9	54,5	77,4	54,5	
		44	4,2	15		26,6	13,2	50	13,4	50					
		42	4,4	15	6,1	26,8	12,9	48,5	13,7	51,5					

Tabelle II.

Absorption in der Zeiteinheit im Durchschnitt in Prozenten.

Versuch No.	Kaninchen	Apparat	Versuchs methode Schema	Respirationszahl im Mittel	Respirationsvolumen pro Stunde in L.	Konzentration der HCl im Mittel pro L.	In der ersten ½ Std.	In der zweiten ½ Std.	In der dritten ½ Std.	In der vierten ½ Std.	Mittlere Absorption nach 1 Std.	Mittlere Absorption nach 1½ Std.	Mittlere Absorption nach 2 Std.	Bes. Bem.
I.	2650 g Exitus Ende der Periode II des Versuchs II	I	I	60	36,5	8,6	74 (65)	54,5			65			
II.				38		17,0	72							
III.	2100 g Nach Beendigung des Versuchs getötet			48	17,4	5,2	58,5 (62,5)	65	65		62,5	63		
IV.	1800 g Nach Beendigung des Versuchs getötet		II	68	29,3	1,4	(59)		(17)		59		49	Berechnung weniger Zuverlässig
V.	1700 g Exitus zu Beginn der Periode II			33	12	1,8	(58)				58			
VII.	2200 g Exitus am Ende der Periode II	II	IIIa	42	12	1,4	(62,5)		(63)		62,5		63	
VIII.	2000 g Exitus am Ende der Periode II			48	15,2	1,6	66 (50)	38			63			
IX.	3000 g Exitus am Ende der Periode IV			56	25	2,7	78 (80)	81,5	80,5 (77)	50	80		79	
XI.	2500 g Exitus am Ende der Periode I		IIIb	40		3,1	48							
XII.	2200 g Exitus gleich nach Beendigung des Versuchs			50	26	3,7	61,5 (64)	66,5	64 (61)	56,5	64	64,5	63	
XIII.	1950 g Exitus gleich zu Beginn der Periode IV			32		5,3	52,5							
XIV.	3250 g Exitus am Ende der Periode V			42	17,2	6,2	68 (60,5)	53			60,5			

2. Eine Gesetzmäſsigkeit in dem Verhalten der einzelnen Absorptionszahlen ist ohne weiteres nicht zu erkennen. Es sind wohl die Zahlen der letzten Periode jedes Versuchs in der Regel besonders klein, im übrigen finden aber Schwankungen statt, die auf den ersten Blick ganz unregelmäſsig scheinen. Namentlich ist ein auffallendes Überwiegen der Absorption in der ersten Periode nicht zu konstatieren. Es ist dies bei einem leicht resorbierbaren, in Wasser leicht löslichen Körper nicht auffallend. Von einer zunehmenden Sättigung des Körpers mit Salzsäuredämpfen ist jedenfalls nicht zu sprechen.

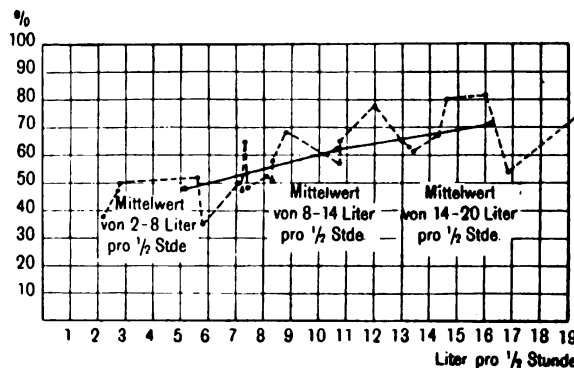


Fig. 2.

3. Dagegen ergibt eine genauere Betrachtung den Verdacht, daſs die Gröſse der relativen Absorption mit der absoluten Gröſse der Atmung während der Periode zunimmt. Um diesen Eindruck zu prüfen, haben wir alle Versuchsperioden, welche die Berechnung halbstündiger Mittel der Absorptionsgröſse erlaubten, in eine Kurve eingetragen, deren Ordinaten die prozentuale Absorption, deren Abszissen das Atemvolum in Litern pro $^1/_2$ Stunde ausdrücken.

Es ist kein Zweifel, nach der Betrachtung der Kurve, daſs im allgemeinen kleines Atemvolum und kleine Absorption zusammen stimmen. Deutlicher tritt die Gesetzmäſsigkeit noch hervor, wenn wir alle diese Versuchsperioden in drei Gruppen teilen.

Gruppe	Atemvolumen pro ½ Std.	Mittleres Atemvolumen pro ½ Std.	Mittlere Absorption
I.	2 bis 8 l	5,1	48 %
II.	8 » 14 l	10,7	62 %
III.	14 » 10 l	16,2	71 %

Lassen wir die Versuche I—VII mit ihrer etwas unvollkommeneren Methode weg, so sieht die Kurve so aus:

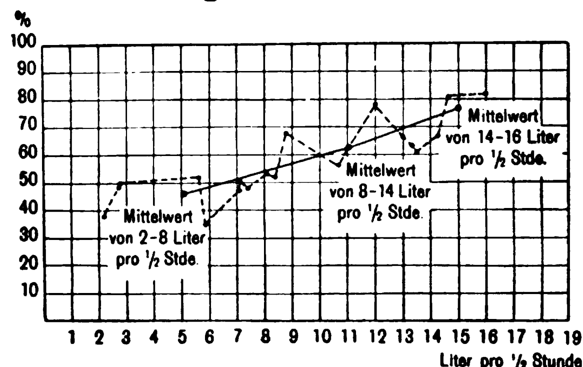


Fig. 3.

Jetzt ergeben sich folgende Mittelwerte:

Gruppe	Atemvolumen pro ½ Std.	Mittleres Atemvolumen pro ½ Std.	Mittlere Absorption
I.	2 bis 8 l	5,1	46 %
II.	8 » 14 l	11,0	62 %
III.	14 » 16 l	15,0	76 %

Die Erklärung dieser Tatsache, die auch für andere Gase zu gelten scheint, mag vorläufig in suspenso bleiben, bis weitere Untersuchungen im hiesigen Laboratorium, die projektiert sind, zur Ausführung gekommen sind.

Mit der bei sehr verschiedenen Gasen ermittelten Tatsache, dafs der Mensch relativ stärker Gase zur Absorption bringt als wie die Tiere (Ammoniak, Schweflige Säure [vgl. Lehmann u. Yamada d. Archiv, Bd. 67, S. 80, 86, 92], Benzol [vgl. d. Archiv Bd. 72, S. 318], Chloroform [vgl. d. Archiv Bd. 72, S. 339]), steht diese Beobachtung im Einklang.

4. Leider verfügen wir über keine Versuche von mehr als zwei Stunden Dauer. Solche sind nur mit sehr kleinen Dosen anzustellen und es ist ohne weiteres wahrscheinlich, dafs bei den kleinen Dosen auch in langer Versuchszeit keine deutliche Abnahme der Absorption abhängig von der Zeit zu beobachten sein wird.

Studien über technisch und hygienisch wichtige Gase und Dämpfe.

XIV. Das Giefs- oder Zinkfieber.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

I. Einleitung.

Ich kann mich in dem historisch-referierenden Teil dieser Arbeit sehr kurz fassen, denn als ich am 22. Sept. 1906 über meine Versuche am Menschen über Giefsfieber in der hygienischen Sektion der Naturforscherversammlung in Stuttgart berichtete[1]) und eine ausführliche Mitteilung über die Frage ankündigte, teilte mir Herr Obermedizinalrat Scheurlen bei der Diskussion mit, dafs Herr Dr. Julius Sigel in Stuttgart soeben eine Arbeit über das Giefsfieber und seine Bekämpfung mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse in Württemberg ausgearbeitet habe. Die tüchtige Arbeit, auf die ich unten zurückkomme, ging mir in der Tat Mitte Oktober 1906 zu[2]). Sie behandelt die Angaben der Literatur über das Giefsfieber so ausführlich auf 14 Seiten, dafs es Eulen nach Athen tragen hiefse, wenn ich selbst nochmals über meine Literaturstudien berichtete. Ich

1) Kurzer Bericht der Naturforscherversammlung: Chemikerzeitg. 1907.

2) Dr. Julius Sigel, Das Giefsfieber und seine Bekämpfung. Sonderabdruck aus der Vierteljahrschrift f. gerichtl. Med. 1906.

begnüge mich deshalb, hier anzuführen, dafs mich das Giefsfieber seit längerer Zeit interessiert, dafs ich Herrn Dr. Georg Hohmann[1]) im Jahre 1903 veranlafste, dem, meines Wissens bis dahin noch gar nicht experimentell untersuchten Giefsfieber, näher zu treten, die Literatur zu sammeln, mit mir eine Umfrage in der Industrie zu veranstalten und endlich zu versuchen, an Tieren das Giefsfieber zu erzeugen. Die Versuche ergaben, trotzdem sie mannigfach modifiziert wurden, und an Katzen, Kaninchen, Hunden und Tauben sowohl mit Zink als Messing gearbeitet wurde, ein sogut wie vollkommen negatives Resultat. Atembeschleunigung, Durst, etwas Schleimausflufs aus Nase und Maul, einmal ein kolikartiger Anfall bei einer Katze, war alles, was wir von pathologischen Störungen bald nach dem Versuch sahen. Beobachtungen in der Nacht nach dem Versuch erwiesen sich als kaum konsequent durchführbar und es schien mir klar, dafs sich die Frage durch Versuche an unseren gewöhnlichen Versuchstieren nur schwer würde wesentlich fördern lassen. Ich nahm mir deshalb vor, Versuche an Menschen bei nächster Gelegenheit anzustellen und veranlafste Herrn Hohmann, seine Dissertation mit folgenden Worten zu schliefsen: »Herr Prof. Lehmann beabsichtigt nun, an einem Arbeiter, der sehr zur Erkrankung an Giefsfieber neigt, einen Versuch anzustellen, wobei in einem engen Raum eine grofse Menge chemisch reinen Zinks verbrannt wird. Erkrankt der Mann, so ist die Zinkhypothese bewiesen, und es wird weiter zu untersuchen sein, ob neben Zinkoxyd überhaupt Zinkdampf in der Luft vorhanden ist. Zinkdampf dürfte wohl durch ein Wattefilter oder besser Asbestfilter mindestens zum Teil hindurchgehen, während sich Zinkoxyd auf demselben niederschlägt. Bleibt der Mann gesund, so wären analoge Versuche unter Anwendung von Messing anzustellen.«

Das mit diesen Worten gekennzeichnete Programm auszuführen, wollte sich lange keine Gelegenheit bieten. In Würz-

1) Dr. Georg Hohmann, Studie über Giefsfieber. Würzburger med. Dissertation 1903.

burg giefst nur noch ein einziger Arbeiter Messing und dieser ist dem Giefsfieber nicht besonders stark unterworfen.

Anfangs Juni 1906 erhielt ich nun durch Vermittlung von Herrn Regierungsrat Dr. Leymann in Wiesbaden von einer gröfseren Messingwarenfabrik die Mitteilung, dafs sich bei ihnen ein Giefser finde, der wohl geneigt wäre, an sich über das Giefsfieber experimentieren zu lassen, und der gegen entsprechende Entschädigung nach Würzburg kommen würde. Ich ergriff die Gelegenheit mit Freuden und teile heute mit, was mich der Versuch an dem Arbeiter und die sich anschliefsenden Experimente gelehrt haben.

Die Arbeit ist seit 1. Jan. 1907 abgeschlossen in meinem Schreibtisch gelegen. Ich hoffte immer noch neue Wege zu ihrer weiteren Förderung zu finden, da ich aber für die nächste Zeit mit anderen Aufgaben überreich versehen bin, so übergebe ich die vorliegende Studie, um sie nicht zu sehr veralten zu lassen, dem Druck.

2. Mitteilungen des Giefsers S. über seine eigenen Erfahrungen mit dem Giefsfieber.

S. ist 27 Jahre alt, ein kräftig gebauter, muskulöser, etwas untersetzter Mann, unverheiratet, von mäfsiger Lebensführung. Bis zu seinem 20. Jahr war er landwirtschaftlich tätig, arbeitete dann 4 Jahre in einer Eisengiefserei, 2 Jahre in einer Akkumulatorenfabrik, ohne dabei bleikrank zu werden, seit $2\frac{1}{2}$ Jahren ist er als Gelbgiefser tätig. In der Fabrik werden 4 Artikel hergestellt: 1. Messing (30—40 Teile Zink + 70—60 Teile Kupfer); 2. Rotgufs (80 und mehr Teile Kupfer + 20 und weniger Teile Zinn); 3. Lagerbronze (zinkfrei); 4. Kupfer.

Nach der Überzeugung der Arbeiter schadet stark der Messinggufs, weniger der Rotgufs, gar nicht die Lagerbronze und der Kupfergufs. In den 8 m hohen Arbeitsräumen sind etwa 40 Arbeiter beschäftigt. Es wird 5—6 mal täglich Messing gegossen, aufserdem 4—7 mal anderes. Auffallend ist dem Arbeiter, dafs er und seine Genossen im Winter sehr viel

häufiger erkranken wie im Sommer, im Winter oft einen Tag über den anderen, im Sommer sehr selten.

Die Erklärung für diese Tatsache ergibt sich nach längerem Gespräch mit dem Arbeiter, der sie selbst nicht kennt, dadurch, daſs im Sommer die Dachreiter eine ziemlich starke Ventilation ermöglichen, die im Winter nicht funktioniert, weil die Klappen der Dachreiter geschlossen sind. Wohl wird nach jedem Messinggieſsen im Sommer und Winter durch Öffnen der beiden unteren Scheiben der Fenster eine Ventilation herzustellen versucht, dieselbe wirkt aber nur im Sommer von den Dachreitern unterstützt energisch, im Winter nur unbedeutend. Eine künstliche Ventilation fehlt bisher. Beim Gieſsen sind die Fenster geschlossen.

St. hat auch an den schlimmsten Wintertagen die Arbeit noch nie abends vorzeitig abbrechen müssen, er hielt immer bis zu Feierabend $6^1/_2$ Uhr aus. In seiner Wohnung kommt er unter Bahnbenutzung etwa $7^1/_4$ Uhr im Winter meist mit etwas Krankheitsgefühl an, das Abendessen schmeckt dann nicht, er geht so bald als möglich zu Bett, deckt sich mit dem Federbett zu und sucht so bald als möglich zu schwitzen. Gegen 10—11 Uhr pflegt das Schwitzen vorüber zu sein und der Schlaf zu beginnen. Das kann mehrere Tage hintereinander so sein, dann wieder mehrere Tage gut. Die Krankheitssymptome sind: Augen normal, etwas Trockenheit und Nieſsreitz in der Nase, etwas Hustenreitz mit Auswurf von schwärzlichem Schleim, Gefühl von Engigkeit auf der Brust. Das Frieren beginnt meist schon auf dem Heimweg, im Kopf leichtes Druck- und Schwindelgefühl — niemals starke Kopfschmerzen. — Im Bette quält, solange man friert, das Zähneklappern und die Erschwerung des Atemholens. Der Schweiſsausbruch wird als Wohltat betrachtet, er scheint die Temperatur wieder normal zu machen. St. glaubt auch, daſs die Sommerhitze deswegen dem Gieſsfieber entgegenwirke, weil sie das Schwitzen begünstige, bei der Arbeit im Zinkqualm zu schwitzen, hält er für gesund.

Alle Arbeiter verhalten sich gleich, keiner ist auffallend unempfindlich, am häufigsten erkranken St. und zwei andere

Vorarbeiter wohl nur deswegen, weil sie länger und intensiver den Dünsten ausgesetzt sind. Alle Arbeiter haben dann und wann im Winter die Krankheit, an die man sich nicht gewöhnt und die oft das Gesprächsthema bildet. St. kennt die Krankheit vom ersten Tage ab, wo er als Gelbgiefser tätig war, sie ist seitdem nicht heftiger und nicht milder bei ihm geworden. Im Winter mufs St. wöchentlich 1—2 mal einige Arbeitsstunden verlieren, weil ihn das Giefsfieber nach schlechter Nacht am Morgen oft so schwach und zerschlagen macht, dafs er nicht sofort arbeiten kann. Da diese wegen Krankheit wegfallenden Arbeitsstunden nicht bezahlt werden, so hat St. durchaus kein Interesse daran, viel krank zu sein. Diese Krankheitsstunden kommen nicht in die Statistik, dagegen kommen wöchentlich im Winter auf die 40 Arbeiter eine grofse Anzahl ganzer ausgefallener Tage wegen Giefsfieber, — wie sie registriert werden, blieb mir fraglich.

Als Prophylaxe waren feuchte Schwämme im Winter 1905/06 meist im Gebrauch wegen Strafandrohung bei Nichtgebrauch, eine Wirkung sollen sie nicht erzielt haben.

3. Ergebnisse meiner Versuche mit St. über die Einwirkung von verbrennendem chemisch reinem Zink.

1. Versuchstag (25. Juni 1906).

In einem Kellerraum von 58,3 cbm wurde chemisch reines Zink in einem grofsen hessischen Tiegel geschmolzen und durch Umrühren mit einem Eisenstab verbrannt.

Die Verbrennung dauerte von 12 Uhr 15 Min. bis 1 Uhr, im ganzen wurden 200 g verbrannt.

Der Zinkgehalt der Zimmerluft betrug in Kopfhöhe über dem Tiegel:

I. Probe. 12 Uhr 35 Min. bis 12 Uhr 45 Min. In 10 Min. 101 l durch Watte angesaugt, darin 12,4 mg Zink, also 1 l 0,124 mg Zink.

II. Probe. 12 Uhr 50 Min. bis 1 Uhr. In 10 Min. 100 l durch Watte angesaugt, darin 22,0 mg Zink, also in 1 l 0,22 mg Zink.

Temperatur in Kopfhöhe ca. 20°.

V. bleibt im Raum von 12 Uhr 10 Min. bis 1 Uhr, klagt über nichts Besonderes. Die ersten 25 Minuten stand er nicht direkt neben dem Schmelztiegel, sondern etwas entfernt, die zweiten 25 Min. rührte er selbst im Zink und war deshalb den Dämpfen direkt ausgesetzt. Er klagte im Raum über nichts und verliefs ihn nach 50 Min.

Um 1 Uhr 15 Min. mittags: Schwitzt, Augen etwas injiziert, Respiration 25, Puls 96. Respiration entschieden etwas mühsam und oberflächlich. Viel Husten, leichte Schmerzhaftigkeit auf der Brust. Die Verhältnisse seien etwa so gewesen wie beim Giefsen im Sommer.

Um 3 Uhr 25 Min. nachm. Empfindung im Hals wieder gut, etwas eingenommener Kopf. Puls 88, Respiration 19—20. Appetit etwas vermindert.

Abends 7 Uhr: Befinden gut, bezweifelt, dafs er krank wird.

Nachts 3 Uhr: Erwachen mit deutlichem Frösteln und Atembeschwerden, etwas Kopfschmerz; er lag eine Stunde wach, etwas schnell und kurz atmend und fröstelnd. Um 4 Uhr wurde er warm, Schweifsausbruch, fühlte sich aber recht unbehaglich eng und hatte etwas Kopfschmerzen. Gegen seine Gewohnheit ging er eine Stunde ins Freie, wo ihm leichter wurde, legte sich um 5 Uhr wieder ins Bett, schlief ein und erwachte um 6 Uhr 45 Min. leidlich frisch. Nach kleinem Morgenspaziergang fühlt er sich um 9 Uhr wieder ganz frisch. Puls 72. Respiration 19.

II. Versuchstag (26. Juni 1906).

Die Versuchseinrichtungen waren genau die gleichen wie gestern; es wurden erst 100 g, dann nochmals 100 g chemisch reines Zink verbrannt. Aber der Arbeiter trägt heute leichtere Kleidung, nur ein baumwollenes Arbeitshemd und Leinenkittel. Der Raum wird absichtlich nicht geheizt. Er rührt in den Zinktiegeln mit einem längeren Eisenstäbchen, um nicht zu nahe an den heifsen, wärmestrahlenden Tiegel gehen zu müssen.

Der Gehalt der Luft an Zink nahm sichtbar vom Anfang bis zum Ende des Versuchs zu, endlich war der Nebel so dicht, dafs man auf 3 Schritte nichts mehr erkennen konnte.

Der Zinkgehalt der Zimmerluft:

von 10^{10}—10^{20} wurden 100 l Luft durch Watte gesaugt, darin pro 1 l 0,36 mg Zink
» 10^{25}—10^{37} » 120 l » » » » » » 1 l 0,28 mg »
» 10^{38}—10^{53} » 170 l » » » » » » 1 l 0,42 mg »

Temperatur an 3 Punkten des Raumes in Kopfhöhe 20, 22, 28°.

Der Arbeiter verweilt in dem Raum von 9 Uhr 50 Min. bis 11 Uhr, also 70 Minuten. Er wird verschiedentlich aufgefordert, doch ja den Raum zu verlassen, wenn es ihm zu unangenehm würde. Er erklärt, ganz gut aushalten zu können und zeigt im Versuchsraum keine besonderen Beschwerden, ab und zu ein wenig Husten.

11 Uhr 7 Min. Der Arbeiter hat den Raum seit 7 Minuten verlassen, ist mit Schweifs bedeckt, die Augen sind gerötet und tränen, er klagt über Kopfschmerzen, Kitzeln und Jucken in der Luftröhre, die Atmung geht schwer von statten, die Atemzüge sind flach, 50 in der Minute. Der Mann hat das Bedürfnis, den Kopf aufzustützen, stöhnt ein wenig beim Atmen, die Hände fühlen sich kalt an. Puls 88. Geht ungeführt aus dem Versuchsraum die Treppe herauf, legt sich auf das Sofa.

11 Uhr 45 Min. Zustand ziemlich unverändert, Atmung 56, der Mann liegt hörbar atmend auf dem Sofa, die Atembeschwerden quälen ihn sehr. Das Kopfweh hat nachgelassen.

12 Uhr. Mastdarmtemperatur 36,8°.

12 Uhr 15 Min. Der Zustand ist etwas besser. Respiration aber immer noch 49; der Mann geht ins Bett.

12 Uhr 50 Min. St. liegt stark zugedeckt im Bett, Temperatur 36,8°, Respiration 40 oberflächlich, etwas schmerzhaft, Puls 106. Mattigkeit, Ruhebedürfnis, vollkommene Appetitlosigkeit.

2 Uhr 10 Min. Leichtes Frösteln trotz starken Zudeckens, Haut trocken, immer noch etwas Kopfweh. Etwas Reiz in Kehlkopf und Luftröhre. Respiration 40, Puls 100, Temperatur 37,5°. Keine besonderen Empfindungen in Muskeln und Gelenken.

3 Uhr. Puls 92, Respiration 36, Temperatur 37,6°. Zustand im wesentlichen unverändert.

3 Uhr 45 Min. Patient liegt halb schlafend stark zugedeckt im Bett, etwas fröstelnd; klagt über Gefühl von bleierner Schwere in den Extremitäten. Respiration 42, Puls 112—114, Temperatur 38,1°, im Kehlkopf und Rachen deutlicher Schmerz. Er sei noch immer nicht warm geworden und friere selbst unter seiner dicken Federdecke ein wenig. Beim Wegnehmen der Federdecke starkes Frostgefühl.

4 Uhr 50 Min. Zustand insofern etwas verändert, als ein leichter Schweifs ausgebrochen ist, doch friert Patient sowie er die Decke etwas lüftet. Temperatur 38,2°, Puls 100, Respiration 44.

5 Uhr. Puls 100, Respiration 44, Temperatur 38,2°, schwitzt etwas.

5 Uhr 40 Min. Puls 112, Respiration 36, Temperatur 38,2°. Befinden viel besser; denkt an Aufstehen. Kopf fast frei, leichtes Wundseingefühl im Halse.

6 Uhr. Patient steht auf, fühlt sich aber nicht gut. Temperatur 38,1°, leichtes neues Frösteln.

7 Uhr. Respiration 40—44, Puls 110. Symptome in Kehlkopf und Trachea gering, Temperatur 37,9°. Patient geht nach der Untersuchung wieder zu Bett.

9 Uhr 20 Minuten. Patient liegt heifs mit trockener Haut im Bett; schläft nicht. Temperatur 38,6°, Respiration 44, Puls 115, kräftig. Patient erhält 1 g Antipirin — das keine deutliche Wirkung tut.

III. Versuchstag (27. Juni 1906).

9 Uhr a. m. Patient hat die Nacht nicht geschlafen. Befinden im wesentlichen unverändert. Temperatur 38,6°. Haut trocken, kein Schweifs, klagt über mäfsige Schmerzen in der Blasengegend.

10 Uhr. Zustand unverändert, Temperatur 38,4°. Patient läfst auf Zureden etwas Harn. Derselbe ist konzentriert, blutfrei, eiweifsfrei. Die Schmerzen lassen darauf etwas nach. Patient gibt an, dafs die Schmerzen besonders beim Husten empfindlich seien, er unterdrückt deswegen das Husten möglichst. Im übrigen ist der Hustenreiz selten und gering.

1 Uhr. Patient hat im Laufe des Vormittags 2 Tassen Milch und 2 Fläschchen Selterswasser getrunken. Der Zustand ist nicht besser. Temperatur 38,6°, Respiration 44, Puls 115—120.

3 Uhr. Temperatur 39,1°, Respiration 44. Puls 110. Patient hat seit 2 Stunden wieder über Empfindungen im Unterleib geklagt, die durch heifse Umschläge gemildert sind. Es wird wieder Harn gelassen; Harn konzentriert, sauer, vollständig frei von Blut (Almenische Probe) und Eiweifs. Kein Appetit, starkes Krankheitsgefühl.

5 Uhr. Zustand unverändert. Temperatur 39,3°, Puls 108, Respiration 40.

7 Uhr 15 Min. Temperatur 39,2°, Puls 110, Respiration 40. Herr Prof. Matterstock, Direktor der medizinischen Poliklinik, nimmt eine genaue Untersuchung vor. Die Untersuchung des Herzens ergibt nichts. Auf der Lunge wird in den beiden Unterlappen feinblasiges reichliches Rasseln gehört, entsprechend einem ausgebreiteten Katarrh der gröberen und wahrscheinlich feineren Bronchien. Auch in der rechten Axilla etwas Rasseln. Keine Dämpfung, nirgends Bronchialatmung. Die Inspektion des Rachens ergibt eine leichte Rötung, entsprechend der Klage des Patienten über leichtes Schluckweh. Die Lebergegend zeigt eine leichte Druckempfindlichkeit; kein starker Meteorismus, aber der Magen ist etwas gebläht. Kein Anzeichen von Empfindlichkeit des Darms. Die Untersuchung der Rückenmarksfunktion ergibt: Cremasterreflex normal, Fufssohlenreflex vermehrt, Patellarsehnenreflex 0, trotz mehrfach sorgfältiger Untersuchung mit allen Kautelen. Motilität und Sensibilität gleich gut erhalten, keine Spur von Ataxie. Es wird dem Patienten geraten, mehr auf der Seite zu liegen und mehr zu trinken. Im Harn gelingt Herrn Prof. Matterstock der Nachweis von Spuren von Indigoblau, dagegen ist die Rosenbachsche Indigorotreaktion auffallend stark. Urobilin kann in kleinen Mengen nachgewiesen werden; kein Zucker, kein Gallenfarbstoff. Die mikroskopische Untersuchung zeigt vereinzelte hyaline Zylinder. Beim Stehen hat aller Harn des Tages ein starkes Sediment von sauren harnsauren Salzen ausgeschieden.

9 Uhr p. m. Respiration 34, Temperatnr 38,6°, Puls 105. Patient fühlt sich wohler, erhält 10 mg Morphium und schläft darauf 2 Stunden, behauptet aber, von Mitternacht an wieder wach gewesen zu sein. Zum ersten Mal schwitzt er wieder.

IV. Versuchstag (28. Juni 1906).

9 Uhr a. m. Befinden entschieden besser, kein Schmerz mehr im Leib. Patient hat reichlich Limonade getrunken. Klagt jetzt noch über etwas Kopfweh und verstärktes Schluckweh. Noch kein Appetit. Zunge etwas belegt. Temperatur 38,0°, Puls 88, Respiration 28. Harn reichlicher, stark sauer. Kein Eiweifs, kein Zucker, Indican etwas vermehrt gegen die Norm, Indigorot viel spärlicher als gestern. Urobilin positiv. Diacetonäure stark positiv, Aceton schwach positiv.

11 Uhr 30 Min. Temperatur 38°. Die Halsschmerzen sind störend, sogar bei der Aufnahme von Suppe. Doch wird im Lauf des Vormittags etwas Milch, Suppe und ein halbes Brötchen genommen.

2 Uhr 45 Min. Herr Prof. Matterstock konstatiert Abnahme des kleinblasigen Rasselns über dem Unterlappen. Die Schmerzen im Unterleib sind nicht einmal auf Druck mehr vorhanden. Reflexe genau wie gestern.

Hämoglobingehalt 113% nach Sahli, 4275000 Erythrozyten, 11250 Leukozyten. Das gefärbte Blutpräparat ergibt geringe Vermehrung der eosinophilen Zellen, sonst normalen Befund.

3 Uhr 30 Min. Temperatur 39°, subjektiv nicht schlechter, aber die Halsschmerzen haben etwas zugenommen.

7 Uhr. Temperatur 38,6°. Halsweh nicht schlimmer, Priefsnitzscher Umschlag um den Hals; erhält 10 mg Morphium und schläft die Nacht meistens.

V. Versuchstag (29. Juni 1906).

7 Uhr 10 Min. a. m. Temperatur 37,6°. Appetit noch mäfsig.

10 Uhr. Temperatur 37,6°, Puls 80, Atmung 20. Puls und Atmung wieder ganz normal. Patient hat Milch, ein Brötchen, etwas Bouillon genossen. Halsweh besser. Röte des Rachens wesentlich geringer. Katarrhalische Erscheinungen über den Unterlappen nur mehr sehr spärlich.

Patient wird mittags entlassen und schreibt nach zwei Tagen, dafs er wieder die Arbeit aufgenommen habe.

Grofse Sorgfalt wurde darauf verwandt, durch Harnanalyse ein Bild von der Zinkaufnahme des Patienten zu erhalten.

Der Harn wurde in einzelnen Portionen gesammelt, verascht, in stark salzsaurer Lösung die Spuren des normalen Kupfers mit Schwefelwasserstoff gefällt, dann mit Schwefelammonium Eisen, und Zink abgeschieden. Der Niederschlag wurde in Säure gelöst, der Schwefelwasserstoff weggekocht, mit Ammoniak das Eisen gefällt, nochmals in Salzsäure gelöst und wieder mit Ammoniak gefällt und so das Eisen entfernt. Das Filtrat enthielt alles Zink, es wurde mit Essigsäure schwach angesäuert und durch Schwefelwasserstoff das Zink gefällt, abfiltriert, in Salzsäure gelöst, mit Natriumkarbonat gefällt und nach dem Glühen als Zinkoxyd gewogen.

Es fand sich:

Harn vom 1. Versuchstag (25. VI mittags — 26. VI mittags) mit einstündigem Verweilen bei der schwachen Zinkoxydkonzentration	1080 ccm mit 1,04 mg Zink
Harn vom 2. Versuchstag (26. VI mittags — 26. VI abends) nach einstündigem Verweilen bei der starken Zinkoxydkonzentration . . , . .	620 ccm mit 0,64 mg Zink
Harn vom 3. Versuchstag (26. VI abends — 27. VI abends), Harn sehr konzentriert, Sedimentum latrinium	380 ccm mit 1,90 mg Zink
	Übertrag 3,58 mg Zink

	Übertrag 3,58 mg Zink
Harn vom 4. Versuchstag (27. VI abends — 28. VI abends), Harn durch reichliches Trinken verdünnter	1280 ccm mit 1,15 mg Zink
Harn vom 5. und 6. Versuchstag (28. VI abends bis 30. VI früh, die Harnmenge ist durch ein Versehen nicht vollständig)	720 ccm mit 1,04 mg Zink
Also in 5 Tagen 4010 ccm Harn mit	4,87 mg Zink

Es wurden hierauf alle die kleinen gewogenen Zinkmengen vereinigt und titrimetrisch mit Ferrozyankalium die Summe bestimmt und 4,74 mg gefunden — ein Beweis für die Reinheit des isolierten Zinks. (Vgl. über die Methode K. B. Lehmann Arch. f. Hyg. XXVIII, S. 297.)

Zwei Kontrollversuche in je 250 ccm Harn eines Menschen, der nicht mit Zink in Berührung kam, ergab in beiden 0 mg Zink.

4. Weitere eigene Erfahrungen über Giefsfiebererkrankung grofsenteils durch chemisch reines Zink.

Die vorstehend mitgeteilten sind aber nicht meine beiden einzigen Erfahrungen über Giefsfieber. Ich selbst und mit gröfster Wahrscheinlichkeit der Institutsdiener erkrankten leicht schon nach dem ersten Zusehen bei einem praktischen Giefsversuche, meine Assistenten Dr. Treutlein und Lang, welche bei den Versuchen mit St. vielfach zugegen waren, hatten ebenfalls typisches Giefsfieber. Ich berichte über diese Erkrankungen im folgenden:

Eigene Erkrankungen (22. Juni 1906).

Ich verweilte bei einem Messinggufs von 2 Uhr — 2 Uhr 10 Min. mittags in starkem Giefsnebel, wobei aber nur Spuren von Flockenbildung in der Luft auftraten. Mäfsiger Geruch nach schwefliger Säure.

Temperatur 35°, in Kopfhöhe 45°!

Ganz wohl, bis auf etwas Trockenheit und Beifsen in der Nase und ganz leichte Empfindungen im Kehlkopf. Das Gefühl verliert sich in 2 bis 3 Stunden ganz.

Abends 10 Uhr: eigentümliches Gefühl in der Trachea beim Tiefatmen. Etwas Jucken und Kitzeln und Hustenreiz. — Von 10 — 11 Uhr entwickelt sich etwas Andeutung von Gliedersteifigkeit, und eine Spur Schmerz in den Gelenken; das Gefühl von Wundsein in der Trachea erhält sich.

11 Uhr zu Bett, bald eingeschlafen.

12 Uhr 30 Min. nachts erwache ich mit etwas verstärktem Gefühl von trockenem Wundsein, leichtem Frösteln, das sich beim Aufsitzen resp. Abdecken erheblich steigert und etwa 20 Min. anhält. Temperatur 12,30—12,50°, in Axilla 36,8, in Ano 37°. Die Temperatur steigt von 1—3 Uhr in Ano auf 37,2, 37,6, 38°, endlich 38,6°, allmählig läfst das Frieren nach und Wärmegefühl und Schweifs tritt auf. Ich nehme 1 g Antipirin und schlafe 3 Uhr 30 Min. ein. Ich erwache 7 Uhr 30 Min. müde und mit mäfsigem Kopfweh, das mich aber an der Arbeit am folgenden Tage nicht hindert und gegen Abend verschwindet. Auch das Wundgefül auf der Brust verschwindet mittags.

Erkrankung des Institutsdieners G. (22. Juni 1906.

Der Institutsdiener G., welcher an dem Besuche in der Giefserei teilgenommen, erklärt, dafs er ganz gegen seine Gewohnheit eine sehr unruhige Nacht gehabt, sich umhergeworfen und viel geträumt habe. Es ist sehr wahrscheinlich, dafs auch er einen leichten Krankheitsanfall durchgemacht hat, aber nicht absolut sicher.

Erkrankung des Oberarztes Dr. Treutlein.

Dr. Treutlein hatte sich beim ersten Versuch an St. am 25. VI. 1906 erst 15 Minuten im Halbdampf der Zinkschmelze, später noch 10 Minuten im Volldampf aufgehalten, d. h. von 12 Uhr 40 Min. — 1 Uhr. Erste Erscheinungen Kratzen im Halse, nach 5 Minuten Volldampf starker Husten, Speichel- und Schleimflufs aus Mund und Nase und Brechreiz. Nach etwa 7 Minuten Gefühl des Wundseins der Trachea und des ganzen Bronchialbaumes. Nach 9 Minuten Atmung nur noch krampfhaft möglich, Sprechen erschwert. Schlufs des Versuches 1 Uhr mittags.

Nachmittag. Kopfschmerz speziell in der Stirnhöhlengegend, der gegen Abend stärker wird, abends 36,6°. Nachts Puls 88, Temperatur 37,1°. Respiration 36. Schlaf leidlich.

26. VI. Morgens: Leichtes Frösteln, Körper trocken. Sehr matt, Temperatur 36,6°. Respiration 28. Puls 72. Kopfschmerz noch vorhanden. Rauhes Gefühl im Hals, in der Trachea und den Bronchien. Körper und Hände trocken.

Nachmittags 4 Uhr. Kopfschmerz weg. Schweifs an Händen, Kopf und Körper. Wohlbefinden.

Erkrankungen des Institutsassistenten Lang.

Am 23. VI 1906 verweilte Herr L. beim Giefser 15 Min. Nachher etwas Beifsen und Jucken in Nase, Kehlkopf und Luftröhre mit häufigem, geringem Auswurf. Auffallender, sehr deutlicher süfslicher Geschmack am Zungengrund. Die Symptome verschwanden bis Abend, die Nacht war gut, der 24. VI. ganz gut.

Am 25. VI. 1906 hielt sich L. 30 Min. lang (von 12 Uhr — 12 Uhr 30 Min.) mit zwei ganz kurzen Unterbrechungen in dem Raume auf, in dem wir

chemisch reines Zink verbrannten, und zwar besorgte er selbst das Verbrennen der ersten 100 g Zink durch Umrühren auf dem Feuer.

Symptome etwa wie am 23. VI, aber nur etwa 2 Stunden lang. L. äufsert sich sehr skeptisch über das Giefsfieber, spricht von Suggestionen.

Am 26. VI 1906 verweilt L. im Anfang des 2. Versuchs am Giefsarbeiter St. 10 Min. im Giefsraum und betritt den Raum zum Ablesen der Gasuhr und zur Beaufsichtigung von St. nochmals etwa 15—20 Min. lang, zusammen ca. 30 Min. Um 11 Uhr verläfst er den Raum definitiv, mit leichten Reizsymptomen wie an den vorhergehenden Tagen. Nachm. 4 Uhr beginnt etwas Kopfweh und Müdigkeit, um 7 Uhr ist der Zustand wenig schlimmer. Kein Appetit, es wird $^1/_2$ Liter warmer Rotwein und ein Weifsbrot eingenommen. Um 10 Uhr beginnt L. zu frösteln (38,1° in Ano), legt sich zu Bett und mifst um 10 Uhr 30 Min. 38,4°. Um 1 Uhr werden 39° konstatiert (Puls 124) um 2 Uhr 38,8°, um 3 Uhr 38,6°. Bis dahin schwankte das Befinden zwischen Frost und Hitze, grofses Mattigkeitsgefühl, beschleunigte kurze Atmung (ca. 34) aber kein Schmerzgefühl auf der Brust, leichte Schmerzen im Kreuz und über der Blase. Um 3 Uhr beginnt Schlaf unter mäfsigem Schwitzen bis morgens 7 Uhr. L. steht auf, ist müde und abgeschlagen, aber das Fieber ist weg. Zunge belegt, noch wenig Appetit, noch etwas Auswurf, der auch in der Nacht vorhanden war. — Am 27. VI wieder wohl.

Zinkversuch an Herrn Assistent Lang vom 13. September 1906 mit improvisierter Schutzvorrichtung.

Am 13. IX. 1906 von 4 Uhr 45 Min. — 6 Uhr 20 Min. p. m. wurden im Kellerraum 300 g chemisch reines Zink verbrannt zum Zweck chemischer Studien. Zum Schlufs war der Kellerraum mit dicken Nebeln gefüllt. Der Zinkgehalt in diesem Versuch betrug:

I. Periode. 5 Uhr 5 Min. — 5 Uhr 20 Min. in 15 Min. in 200 l angesaugt 28 mg Zink, also 0,14 mg pro Liter.
5 Uhr 25 Min. — 5 Uhr 40 Min. in 15 Min. in 105 l angesaugt 42,4 mg Zink, also 0,41 mg pro Liter.
5 Uhr 45 Min. — 6 Uhr 20 Min. in 35 Min. in 300 l angesaugt 208 mg Zink, also 0,69 mg pro Liter.

L. hatte von Anfang bis zum Schlufs ein nasses Tuch vor Mund und Nase gebunden, das er immer wieder neu mit einem Schwamm befeuchtete, so oft er den Raum betrat. An der Stelle, wo das Tuch nicht gut anschlofs, also zwischen Nase und Backenknochen, stopfte er es mit Watte aus. Eine bessere **improvisierte** Schutzvorrichtung ist unmöglich. L. verweilte etwa 10 mal je 1 — $1^1/_2$ Minuten im Raum, d. h. er öffnete die Türe etwas, schaute ob das Zink verdampfte und schlofs sofort wieder. Liefs das Verdampfen nach, oder war das Zink verbran..t, so rührte er kurz mit einem eisernen Haken oder er schüttete frisches Zink nach.

L. blieb also diesmal nur die nötigste Zeit im Raume, sonst war er im Freien. Erst fast am Schlusse des Versuches merkte er im Rachen wieder den süfsen, an Saccharine erinnernden Geschmack.

Am Schlusse des Versuchs, also in den dichtesten Nebeln, blieb er 2 Minuten im Raum, weil er die Apparate abstellen mufste, stets aber war er mit Tüchern geschützt. Sofort nachher bekam er regelrechte Hustenanfälle und rachenkatarrhähnliche Erscheinungen (belegte Stimme mit Auswurf). Diese Erscheinungen hielten 2 Stunden an.

Um 10 Uhr 30 Min. p. m. legte er sich zu Bett. Es wurde ihm aber warm, er konnte nicht einschlafen. Getrunken hatte er von 7—10 Uhr 2 Glas Bier und $^1/_4$ l Wein gemischt mit $^1/_8$ l Selterswasser.

Um 11 Uhr 30 Min. bekam er Fieber (leichteren Schüttelfrost), 38°, um 1 Uhr 38,5° und Kopfweh, welches gegen 2 Uhr seinen Kulminationspunkt mit Fiebersteigerung auf 39° erreichte. Gegen 5 Uhr liefs das Fieber nach und war gegen 6 Uhr früh verschwunden. Er lag den ganzen Tag zu Bett, hatte den ganzen Tag Kopfweh, war sehr müde und abgespannt, hatte starke Schmerzen im Kreuz und in der Gegend der Blase, Ziehen in den Samensträngen und Hoden. Der Urin war nachts wenig und rötlichgelb, während des Tages aber wieder regelmäfsig und hellgelb, nicht getrübt. Beim Urinieren ein leicht brennendes Gefühl. L. hatte während des ganzen Tages eine stark belegte Zunge und ebenso belegte Rachenhöhle. Appetit keinen. Abends um $8^1/_2$ Uhr nahm er etwas Schinken mit Ei zu sich.

Am 15. IX vormittags im Institut: Noch Gefühl von Müdigkeit, minimale Kreuzschmerzen. Leicht eingenommener Kopf. Etwas belegte Zunge. Sonst völlig normal.

5. Vergleich unserer Menschenversuche mit der Kasuistik.

Unsere Beobachtungen decken sich sehr gut mit denen der Litteratur.

Der süfsliche Geschmack, den namentlich Herr Lang stets beobachtete, wurde auch in der Literatur und speziell in unseren Auskünften oft erwähnt. Wir konnten ihn mit Zink oder Zinkoxyd, das wir in den Mund nahmen, nicht erzeugen. — Zweimal wurde uns Erbrechen angegeben.

Die Reizsymptome in Rachen und Trachea werden verschieden stark geschildert, quälender Husten ist zuweilen erwähnt, Müdigkeit und Abgeschlagenheit, Muskelsteifigkeit, leichte Gelenkschmerzen fehlen selten in den Schilderungen. Schüttelfrost und Fieber werden allgemein angegeben, wenn auch aufser von uns und Sigel kaum eingehende Temperaturmessungen ausgeführt sind. Nur Czajkowski hat einige Fiebertempera-

turen ermittelt. — Nach Sigel kann der ganze Symptomenkomplex mit Schüttelfrost und Schweifsausbruch ohne jede Temperatursteigung erfolgen. In der Literatur und unseren Mitteilungen findet sich öfters Kopfweh aufgeführt — auch St. hatte anfangs Kopfweh — das Symptom ist aber verschieden stark ausgebildet.

Der Umstand, dafs der Frost häufig beim Zubettgehen erst recht merklich wird, ist nicht wunderbar. Durch das Auskleiden und Sich-in-das-kalte-Bett legen findet eine Hautabkühlung statt, die ausreicht bei dem Menschen mit gestörter Wärmeverteilung einen Schüttelfrost ausbrechen zu lassen. Ich habe Ähnliches bei leicht fieberhaften Katarrhen öfters an mir beobachtet, eine heifse Bettflasche stillt das Schütteln auffallend rasch. — Ich finde bei Grunkow (1858) diesen gleichen Gedanken ausgesprochen.

Ob es sich bei dieser Temperatursteigerung nur um einen temporär verhinderten Wärmeabflufs durch eine zentrale Erregung der Vasomotoren handelt, was Frösteln und Hitze erklären würde, oder ob auch zeitweise wirklich die Wärmebildung vermehrt ist, ist noch weiter zu untersuchen.

Sigels Erfahrungen an drei Personen beim Messinggiefsen, von denen eine mehrfach untersucht ist, passen sehr gut zu meinen Beobachtungen. Da Sigel nur an Giefstagen Zink im Harn fand, hält er das Zink für die Ursache der Krankheit, ohne die Frage der direkten oder indirekten Ursache näher zu diskutieren. An seiner zweiten Versuchsperson, einem 58jährigen Arbeiter, war bei leichtem Frieren ohne Schüttelfrost mehrfach nur eine Temperatur von 37° beobachet, aber bei jeder, auch leichten Erkrankung etwas Eiweifs und Zink im Harn. In heftigen Anfällen wurden Temperaturen bis 39,2 beobachtet.

Sigel hat das Zink nur qualitativ und in kleinen Mengen im Harn gefunden, über die Frage, ob Zinkdämpfe oder Zinkoxyd die Krankheit bedingen, bringt er keine bemerkenswerten Angaben oder Versuche.

6. Schlüsse aus den eigenen Menschenerfahrungen.
(Ist das Giefsfieber eine direkte oder indirekte Zinkvergiftung?)

Es kann nach meinen Erfahrungen an Menschen kaum zweifelhaft sein, dafs das Zink die Ursache der Vergiftung darstellt. Alle Bemühungen, in dem chemisch reinen Zink, mit dem wir gearbeitet haben, ein fremdes, in Frage kommendes Metall nachzuweisen, waren vergeblich. Das Zink enthielt kein Arsen, kein Antimon und lieferte, mit Schwefelwasserstoff behandelt, blendend weifse Sulfide in essigsaurer Lösung. Es war also auch kein Kupfer, Blei, Zinn, Quecksilber vorhanden. Der Schwefelammoniumniederschlag war ebenfalls rein weifs, also auch kein Eisen, Mangan, Chrom, Nickel oder Kobalt zugegen. Ich habe deswegen bei den weiteren Betrachtungen die Anwesenheit eines fremden Metalles nicht mehr in Rechnung gezogen. Die bei dem gegenwärtigen Zustand der Chemie nicht ohne weiteres absurde Hypothese, dafs das Zink noch ein unbekanntes Metall begleite, will ich nicht näher diskutieren.

Das glaube ich jedenfalls bewiesen zu haben, dafs die früheren immer wieder ventilierten Erklärungsversuche des Giefsfiebers als Kupfer, Kadmium, Kohlenoxydvergiftungen durch meine Versuche definitiv experimentell beseitigt sind. Wenn Sigel sich für die Bedeutung des Zinks als Ursache des Giefsfiebers aussprach, so fehlten ihm dafür doch noch einwandfreie Beweise, denn alle Fälle, die er beobachtete, stammten aus Messinggiefsereien, er hat nicht einen Fall von Giefsfieber bei Beschäftigung mit Zink und erst recht keinen bei Arbeiten mit chemisch reinem Zink beobachtet. Dafs er Zink in qualitativen Spuren im Harn der Giefsfieberkranken fand, war wohl kein genügender Beweis.

Gegen die Bedeutung des Kupfers bringt er keine wesentlich neuen Beweise, die nicht schon bei Hohmann angeführt wären. Kohlenoxyd fand er keines — die Kohlenoxydhypothese war aber auch ohnehin, wie ich mit Hohmann ausführte, einfach unhaltbar.

Der scheinbar sehr schwere Einwand gegen die Zinktheorie des Giefsfiebers: Messingarbeiter erkranken viel häufiger als Zinkhüttenarbeiter, erklärt sich durch die Zuschrift eines Gelbgiefsers R. S. aus Halle bei Gelegenheit meiner Studien mit Hohmann. Zink schmilzt schon bei 400—500°, Messing sehr viel höher, und wenn man Messing aus Kupfer und Zink herstellt, schmilzt man zuerst das Kupfer bei ca. 1000° und gibt dann das Zink zu. Je höher aber die Temperatur ist, um so lebhafter verbrennt das Zink, um so stärkere Zinkoxydnebel entwickelt es. Es ist dies eine wichtige Aufklärung.

Nun kommt aber die grofse Schwierigkeit, mittels einer Zinkvergiftung[1]) das eigentümliche Krankheitsbild des Giefsfiebers zu erklären. Einleuchtend ist, dafs erhebliche Zinkoxydmengen bei der Respiration in den Rachen, die Luftröhre, die Bronchien gelangen. In unseren Versuchen würde sich etwa $16 \cdot 0{,}5 \cdot 60 \cdot 0{,}3$ mg pro Stunde, d. h. 150 mg Zinkoxyd ergeben — eine Menge, von der man wohl zweifelhaft sein darf, ob sie in löslicher Form subkutan injiziert bei einem Menschen nennenswerte Symptome macht. Die sehr kleinen Zinkmengen, die wir im Harn bei der ziemlich schweren Vergiftung des St. fanden — etwa 1 mg pro Tag, machen es nicht unwahrscheinlich, dafs das in den Respirationstrakt gelangte Zink von dort nur partiell aufgenommen wird — einen Beweis stellt die Niedrigkeit dieser Zahl natürlich nicht dar, es könnte ja Zink im Körper gespeichert oder mit dem Kot ausgeschieden werden — das Unterlassen der Kotuntersuchung auf Zink ist eine sehr bedauerliche Lücke meiner Arbeit.

Weiter bleibt es vorläufig sehr schwer verständlich, dafs vom Respirationsapparat aufgenommene Zinkmengen Symptome machen, die wir sonst nie bei einer Metallvergiftung finden.

1) Die spärlichen Literaturangaben (vgl. Hohmann) nach denen auch Eisen- (Thibaut) und Kupferarbeiter (Blandet und Reboulleau, Greenhow) an Giefsfieber oder wenigstens verwandten Erkrankungen zuweilen leiden, sind in neuerer Zeit nicht bestätigt. Sie sollen deshalb hier nicht nochmals diskutiert werden. Mit der Auffassung, dafs das Giefsfieber nur indirekt eine Zinkvergiftung darstelle (s. u.) wäre Giefsfieber nach der Aufnahme anderer Metalle gut vereinbar.

Alle Versuche, durch Zinkpräparate verschiedener Art ein an Giefsfieber erinnerndes Krankheitsbild zu erzeugen, blieben bisher negativ. Es wurden folgende Versuche angeführt:

1. Versuche mit intratrachealer Injektion von Zinkoxyd.

Kaninchen (61). (Zweimal mit gleichem Erfolg wiederholt.)

Am 23. VII. abends mit einem Katheter durch den Kehlkopf reichlich Zn O in die Lungen zu blasen versucht.

Temperatur am 23.—25. VII. stets 39,2—39,7°. Trachea enthält bei der Tötung am 25. VII. abends keine sichtbare Menge Zn O, Epithel flimmert prachtvoll. Vielleicht zu wenig eingeblasen.

Kaninchen (90).

Am 24. VII. früh durch grofse Trachealwunde sehr reichlich Zn O eingeblasen. Temperatur bis zum Chloroformtod am 25. VII. früh stets 39 bis 39,4°. In der Trachea (Chloroformtod) findet sich 400 mg Zn O = 326 mg Zink, in der Trachea und den groben Bronchien Schleim, Lunge erscheint intakt. Das Flimmerepithel wird etwas zu spät nach dem Tode untersucht, dennoch flimmert es an vielen Stellen.

Kaninchen (73).

Am 25. VII. abends durch quere Trachealwunde sehr reichlich Zn O in die Trachea geblasen. Am 26. VII. in voller Gesundheit mit Chloroform getötet. Die Lunge enthält 468 mg Zn O = 375 mg Zink. Die Trachea wird etwas zu stark mit kaltem Wasser abgespült, dennoch zeigt das Epithel an vielen Stellen starkes Flimmern.

Kaninchen (M.).

Am 14. IX. wird einem kleinen Kaninchen ca. 100 mg Zn O, das bei einem Zinkverbrennungsversuch einige Stunden vorher gesammelt war, in die Trachea durch eine Kanüle eingeblasen. Das Tier wird nach 36 Stunden getötet, das Trachealepithel ist fest und in lebhafter Bewegung.

Aus diesen Versuchen ist keine deutliche Störung durch Zn O von der Trachea aus abzuleiten.

2. Versuche mit subkutaner Injektion von weinsaurem Zinkoxydnatron.

30. VII. abends 6 Uhr 15 Min. erhält ein halbwüchsiges Kaninchen von etwa 1500 g 10 mg Zn als weinsaures Doppelsalz subkutan auf zwei Stellen verteilt.

30. VII.	abends	6	Uhr	15	Min. Temperatur	40,1°.
	»	7	»	30	» »	39,0°.
	»	10	»	15	» »	39,5°.
31. VII.	morgens	10	»	15	» »	39,4°.

Tier erscheint ganz normal.

3. Versuche mit Injektion von weinsaurem Zinkoxydnatron in die Trachea.

30. VII. abends 6 Uhr. Halbwüchsiges Kaninchen (67) von ca. 1500 g erhielt 2,5 mg Zn als weinsaures Doppelsalz in die Trachea injiziert in 1 ccm Wasser.

30. VII.	abends 6 Uhr	15 Min.	Temperatur	39,4°	Trachealrasseln.
	« 7 »	30 »	»	38,7°	
	» 10 »		»	38,8°	
31. VII.	morgens 8 »		»	38,8°	

Sektion ergibt blutigen Schleim in der Trachea. Trachealepithel zeigt kein Flimmern trotz sofortiger Untersuchung. Linke Lunge normal, rechte in weitem Umfang ödematös, ein Lappen derb pneumonisch infiltriert.

4. Versuch mit Inhalation von verspraytem weinsaurem Zinkoxydnatron.

Kaninchen (W.).

Am 15. IX. atmet ein Kaninchen stundenlang Luft, die mit einem Nebel erfüllt ist, hergestellt durch Versprayen einer Lösung von 0,84 mg Zink in 1 ccm. Die Sektion am folgenden Tage nach Tötung mit Chloroform ergibt normales Lungenepithel, etwas Eiterung in der Trachea.

Ich habe diese unbefriedigenden Versuche nicht fortgesetzt, weil es Hohmann und mir an Kaninchen ebensowenig wie an den anderen zugänglichen Versuchstieren (Katzen, Hunden, Tauben) gelungen war, durch Zinkoxydnebel Gießfieber zu erzeugen. Man kann aber die Hoffnung hegen, daß weitere Tierversuche — an Affen etwa — sowohl Gießfieber als gießfieberartige Zustände bei trachealer Zinkvergiftung ergeben. Diese Versuche sollen bei erster Gelegenheit nachgeholt werden.

Inzwischen mögen einige andere Betrachtungen gestattet sein: Niemand wird leugen, daß das Gießfieber Symptome bietet, die am ehesten an die Folgen einer bakteriellen Infektion vom Respirationstraktus aus erinnern. Die Inkubation, das Frösteln, das Fieber, das auf Schweißausbruch zurückgeht, das Gefühl einer Kongestion der Bronchien, der Auskultationsbefund einer verbreiteten Entzündung der feineren Bronchien, alles stimmt zum Bilde eines infektiösen Katarrhs. Dagegen spricht der typische Ablauf in meist wenigen Stunden, die Tatsache, daß die Krankheit nie einen gefährlicheren Charakter annimmt, nicht zu Pneumonie, Pleuritis, Gelenkaffektionen usw. führt, wie man das doch erwarten müßte, wenn Infektionserreger eindrängen.

So gut der erste Teil der Erkrankung, der Giefsfieberanfall, sich mit einer Erkältungskrankheit in Parallele setzen läfst — das eine Mal begünstigt die Abkühlung des Körpers, das andere Mal die Zinkoxydeinatmung das Eindringen infektiöser Keime — so wenig will mir der gewöhnliche Ablauf dazu stimmen, doch verlief gerade die Erkrankung von S. etwa wie eine Infektion. Giefsfieberkranke scheinen nicht ansteckend zu sein.

Noch eine dritte Möglichkeit scheint mir gegeben zu sein zur Erklärung. Die Injektion »artfremden Eiweifses« veranlafst ein Krankheitsbild, das manche Ähnlichkeit mit dem Giefsfieber hat: Atembeklemmung, Frost, Fieber, könnten sich ganz gut so erklären, und ich brauchte nur noch artfremdes Eiweifs, um unbedenklich diese Erklärung zu akzeptieren. Sollten Mikroorganismen des Respirationskanals durch Zinkoxyd abgetötet werden und ihr Körperinhalt als giftig wirkendes Protein absorbiert werden? Oder steht am Ende gar durch Zinkoxydwirkung auf die Epithelien unter partieller Abtötung derselben ein zwar nicht artfremder aber so weit veränderter Eiweifskörper, dafs seine Resorption Fieber erzeugt? Die Menge des so entstehenden organischen Giftes dürfte man in der Regel als sehr klein annehmen und die kurze Dauer der Krankheit damit befriedigend erklären. Dafs bei besonders schwerer Einwirkung längere fieberhafte Erkrankung entstehen kann, zeigt unser Experiment an St., bei dem sich vielleicht sogar eine leichte Streptokokkeninfektion an die Trachealätzung angeschlossen hat.

Ich gestehe, dafs mir seit Jahren die dritte Erklärung an Wahrscheinlichkeit gewonnen hat.

Eine Frage war aber schliefslich noch zu studieren, nämlich die, ob das Zink wirklich, wie ich oben als besonders wahrscheinlich hingestellt habe, als Zinkoxyd wirkt, oder ob es als Zinkdampf seine Wirkung entfaltet. Manche Autoren haben die Vorstellung, dafs ein Teil des erhitzten Zinks sich in Dampfform in der Luft befindet, und als solches in die Lunge gelangen könne, und auch Sigel ist ihr nicht ungünstig. Theoretische Überlegungen liefsen mir eine andere Auffassung wahrscheinlicher erscheinen, nämlich die, dafs das Zink unterhalb

seines Schmelzpunktes keine merkliche Menge von Dämpfen abgebe, oberhalb seines Schmelzpunktes zwar Dämpfe entsende, aber Dämpfe von einer solchen Temperatur, dafs sie sich bei Sauerstoffzutritt sofort oxydieren — ehe sie mit dem Arbeiter in Berührung kommen. Überlegungen konnten aber die Frage nicht entscheiden, und so bemühte ich mich denn, zunächst ein Mittel zu finden, um in dem aus dem Giefsraume gesammelten Zinkoxyd metallisches Zink nachzuweisen. Meine Überlegung war die folgende: Zinkoxyd mit Schwefelsäure übergossen, liefert nicht eine Spur von Gas; wogegen kleinste Mengen von metallischem Zink mit Schwefelsäure Wasserstoffgas liefern, vorausgesetzt, dafs man einen Katalysator zusetzt, als welchen ich ein Tröpfchen verdünntes Platinchlorid benützte. Setzte man einer grofsen Messerspitze von käuflichem, reinstem Zinkoxyd einige Stäubchen Zinkstaub bei, so bekam man sofort mit Schwefelsäure und Platinchlorid Gasentwicklung, nicht aber mit dem Zinkoxyd aus dem Versuchsraum allein. Der Versuch wurde sehr oft in allen möglichen Modifikationen mit stets genau dem gleichen Resultat wiederholt.

Es mag hier gleich erwähnt sein, dafs auch kein Zinksuperoxyd im Zinkoxyd nachzuweisen war. Spuren von Zinksuperoxyd geben mit Schwefelsäure eine Gasentwicklung durch Sauerstoffabscheidung, wie ich mich an dem unter dem Namen Hopogan im Handel befindlichen Zinkhyperoxyd leicht überzeugte. Das von mir gesammelte Zinkoxyd lieferte aber niemals eine Spur Sauerstoff mit Säure.

Um nun mein möglichstes zu tun, etwaige Spuren von Zinkdämpfen über erhitztem chemisch reinem Zink nachzuweisen, habe ich 5 Versuche angestellt, in denen ich chemisch reines Zink in einem hessischen Tiegel erhitzte und versuchte, durch Ansaugen der Luft unmittelbar über der Oberfläche des Zinks neben Zinkoxyd Zinkdämpfe zu gewinnen. Zur Absaugung bediente ich mich einer kleinen über den Tiegel gestülpten Glasglocke (Zwischenraum zwischen Tiegelrand und Glocke etwa $^1/_2$ cm), die sich in ein Rohr verlängerte, das ein festgestopftes Wattefilder trug. Die Erhitzung dauerte stets mehrere Stunden;

sie war in einigen Versuchen so schwach und vorsichtig, dafs sich nur Spuren sichtbarer Zinkoxydnebel entwickelten, in anderen entwickelte ich stärkere, in einigen durch starkes Erwärmen und Umrühren stärkste Nebel. Alle Versuche ergaben insofern das gleiche Resultat, als stets in der Watte alles Zink, das überhaupt weggesaugt wurde, zu finden war. Nie entwickelte der Wattepfropf mit Schwefelsäure Wasserstoff, stets löste er sich ohne Gasbildung. Eine hinter dem Watterohr eingeschaltete Schwefelsäureflasche zeigte keine Spur von Zinkgehalt mit Ausnahme des ersten Versuchs, in dem die Watteröhre nicht dicht genug gestopft war. Aus allem scheint mir mit Sicherheit hervorzugehen, dafs sich Zinkdämpfe weder über erwärmtem noch über verbrennendem Zink, zu dem Luft zutritt, nachweisen lassen, und ich sehe deshalb in dem feinst verteilten Zinkoxyd, wie es der Verbrennungsversuch liefert, die weitaus wahrscheinlichste Ursache des Giefsfiebers.

Die Erfahrungen, die Prof. Otto Roth in Zürich über das Entweichen von Blei aus Tiegeln mit schmelzendem Metall gewonnen hat (Festschrift f. Prof. Julius Arnold 7. Supplement aus Zieglers Beiträgen zur path. Anatomie), sind nicht für oder gegen die Exsistenz von Dämpfen zu verwerten. Die kleinen Bleimengen, die er erhielt, können nach seiner Versuchsanordnung in Form von Bleidampf oder Bleioxyd vorhanden gewesen sein. Roth nimmt aber (S. 186) geradezu mit Husemann und anderen an, dafs die »Bleidämpfe« aus Blei in feinster Verteilung in Form von Bleioxyd bestehen. Er kommt also zur gleichen Ansicht, wie ich sie aus meinen Zinkversuchen ableite.

7. Zur Hygiene und Prophylaxe des Giefsfiebers.

Die Fragebogen, die ich 1903 mit Hohmann versandte, haben wenig hier verwertbares Material ergeben, sie zeigten, dafs die Krankheit in weiten Kreisen Behörden und Aufsichtsorganen kaum bekannt war, während sie die Arbeiter recht gut zu kennen scheinen. Einige Angaben sind oben bereits verwertet, auf einiges komme ich jetzt zu sprechen, in Hohmanns Arbeit ist schon fast alles wesentliche daraus mitgeteilt.

Sigels verdienstvolle Arbeit dürfte zum Teil durch unsere Fragebogen angeregt sein. Er weist die allgemeine Verbreitung der Krankheit in Messinggießereien (von 25 württembergischen Gießereien) nach, auch mein Gewährsmann St. behauptete ihre sehr weite Verbreitung. Wir konnten beobachten, daſs alle vier Personen des Instituts, die mit dem verbrennenden Zink in etwas ausgiebige Berührung kamen, erkrankten. Die Erkrankung von Herrn Assistent Lang, der im Anfang das ganze Leiden als ein halb eingebildetes betrachten wollte, erfolgte erst bei der dritten Exposition. Hohmann scheint wenig empfindlich zu sein, er machte einige kleine Messinggüsse in einer Würzburger Werkstätte ohne Schaden mit. Am empfindlichsten von allen Personen reagierte ich selbst, die S. 367 beschriebene Krankengeschichte ist ein Beweis dafür. Auch die achtstündige Inkubation ist auffallend lang. Bemerken möchte ich, daſs ich Heufieberpatient bin, aber sonst gar keine idiosynkrasierte Empfindlichkeit gegen »eiweiſsartige« Gifte an mir betrachtete und noch niemals Urticaria hatte.

Nach Sigel sollen 70% der Arbeiter mit der Zeit eine gewisse Immunität gegen die Schädlichkeit erwerben. Unsere Fragebogenantworten sprechen auch für eine gewisse Gewöhnung, namentlich sollen Anfälle bei Neulingen und älteren Arbeitern, die eine Weile nicht mehr beim Guſs beschäftigt waren, auftreten. Diese Erfahrung meldet schon der erste gründliche Untersucher der Krankheit Grunkow 1858. St. wollte nach seinen Erfahrungen davon nicht viel wissen. Er jedenfalls erkranke immer wieder, und auch unter seinen Gefährten sei die Mehrzahl immer wieder krank, eigentlich immune wollte er keine kennen. Eigene Erfahrungen habe ich bisher keine hierüber, auch keine sorgsame Statistik.

Eines beweisen die Erfahrungen von Herrn Lang, daſs improvisierter Schutz durch Tücher und feuchte Schwämme nur wenig hilft, wenn reichliche Zinkoxyddämpfe im Raume sind.

Damit stimmen alle persönlichen Auskünfte von Arbeitern überein. Niemand glaubt so recht an eine Wirkung der persönlichen Schutzmittel.

Dagegen lauten unsere Auskünfte übereinstimmend mit denen von Sigel günstig über die Wirkung der Ventilation der Gieſsräume. Im Sommer, wo man mehr ventiliert, ist die Krankheit seltener als im Winter, trübes, dunstiges Wetter begünstigt die Krankeit, hohe, luftige, gut ventilierte Räume lassen sie seltener werden. Einzelne Betriebe rühmen sich, die Krankheit nicht mehr zu kennen und schieben dies auf gute Anlage und gute Ventilation; so scheint in den musterhaften Gieſsräumen von Zeiss in Jena die Krankheit fast vollständig verschwunden. Es befindet sich hier über jedem Schmelzofen ein trichterartiger Dunstfang, der mit dem groſsen Schornstein in Verbindung steht.

Auch Sigel konstatiert, daſs die Krankheit durch die verbesserten Einrichtungen an Heftigkeit, wenn auch noch nicht überall, an Häufigkeit abnimmt. Sie scheint zu den fast ausrottbaren Fabrikkrankheiten zu gehören.

Besondere Studien sind jedenfalls noch darüber anzustellen, inwieweit die Krankheit auf die Dauer die Gesundheit angreift. Einige Beobachtungen und Literaturangaben hat Sigel mitgeteilt, indem er sagt: »Dauernde Störungen sind selten, allein bei manchen Personen, die sich an das Gieſsfieber nicht gewöhnen können, treten dauernd allgemeine Mattigkeit, fahles, schlechtes Aussehen ein. Die Leute sehen aus, als ob sie die Schwindsucht hätten, magern ab, haben Verdauungsstörungen mancher Art (Gestritis, Diarrhöen) und sehr häufig chronische Rachen- und Bronchialkatarrhe. Die Sterblickeit der Gieſser ist jedoch keine höhere, als die der übrigen Metallarbeiter.

Ich darf daran erinnern, daſs ich (Arch. f. Hyg., XXVII, 297) einen Hund ein Jahr lang mit Zinkkarbonat fütterte (täglich im Durchschnitt = 464 mg Zink per kg). Die Ausscheidung des Zinks wurde quantitativ verfolgt, das sehr kräftig entwickelte getötete Tier mikroskopisch normal gefunden, obwohl in den Organen überall Zink in ziemlichen Mengen quantitativ bestimmt werden konnte. Damit ist aber natürlich nur ein Beitrag zur Frage der Schädlichkeit des Zinks und keine Lösung der Frage gegeben. Ich selbst werde trachten, noch weiter auf diesem

Gebiete tätig zu sein, womöglich unter Mitwirkung von Praktikern unter Verwendung von Tieren, die Gießfieber bekommen.

Ergebnisse.

1. Das Gießfieber ist durch Arbeiten mit verbrennendem, chemisch reinem Zink beim Menschen sehr leicht zu erzeugen.
2. Das Gießfieber ist eine direkte oder indirekte Zinkvergiftung. Nach den sehr geringen Mengen Zink, die im Harn erscheinen, dem Symptomenkomplex und dem raschen Abfall der Erscheinungen ist die Annahme wohl diskutierbar, daſs eine Resorption von durch das Zink abgetötetem und verändertem Zellinhalt (Bakterien oder Epithelien) aus dem Respirationstraktus die eigentliche Krankheitsursache sei. Eine Komplikation der Intoxikation mit einer Infektion durch Eindringen lebender Bakterien ist denkbar bei den schwereren Fällen, aber sicher nur als Ausnahme.
3. Das Zink wird nur als Zinkoxyd, nicht als Zinkdampf eingeatmet.
4. Individuelle Schutsmittel beim Zinkguſs helfen wenig, Abhaltung der Zinkoxydnebel von den Arbeitern durch generelle Maſsnahmen ist nötig.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Assistent H. K. Lang für seine manigfachen Hilfeleistungen bestens zu danken, ebenso bin ich den Beantwortern der Fragebogen und Herrn Regierungsrat Leymann für Überweisung des Arbeiters St. zu Dank verpflichtet.



Th

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

ZWEIUNDSIEBZIGSTER BAND. 4. HEFT.



MÜNCHEN UND BERLIN.

VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1910.

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Experimentelle Studien über den Einfluß technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus. Teil XV. Studien über Arsenwasserstoff. Von Dr. L. O. Dubitzki, Assistent am Hygienischen Institut in Kiew. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

Über die Wirkung dauernd verabreichter kleiner Chininmengen auf die Entwicklung des tierischen Organismus und dessen Neigung zu Infektionskrankheiten. Beitrag zum Studium der Prophylaxis der Malaria. Von Dr. Albert Graziani, Dozent und Assistent am Hygienischen Institut der Universität Padua. (Direktor Prof. A. Serafini.)

Über den Enzym- und Streptokokkengehalt aseptisch entnommener Milch. Von Dr. W. Rullmann. Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. (Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. v. Gruber).

Einsendungen beliebe man an **Geheimrat Professor Dr. Rubner, Berlin N. 4, Hessischestr. 3–4,** *zu richten.*

Deutsches Nationalkomitee für den II. Internationalen Kongreß für Nahrungshygiene und rationelle Ernährung des Menschen.

In **Brüssel** findet in dem Palast der Weltausstellung vom **4. bis 8. Oktober d. Js.** unter dem Protektorat der Belgischen Regierung der **II. Internationale Kongrefs für Nahrungshygiene und rationelle Ernährung des Menschen** statt.

Abgesehen von den wissenschaftlichen Zielen, die der Kongreß verfolgt, ist es auch in besonderem Maße ein **nationales** Interesse, den Kongreß zu besuchen und durch Vorträge zu fördern, um neben anderen Nationen auf besonderen Wunsch der Belgischen Regierung die Leistungen der Deutschen Wissenschaft auf den oben bezeichneten Gebieten zur Darstellung zu bringen. Zu diesem Zweck hat sich ein **„Deutsches Nationalkomitee"** gebildet, dem die namhaftesten Vertreter der deutschen Wissenschaft und Behörden angehören, u. a. Abderhalden, Abel, v. Buchka, Delbrück, Forster, Flügge, E. Fischer, C. Günther, Heubner, Kerp, J. König (Münster), K. B. Lehmann, Paalzow, Proskauer, Thoms, Zuntz.

Den Vorsitz hat Geheimrat **Prof. Rubner** übernommen, Sekretär ist Stabsarzt **Prof. Hoffmann** (Berlin N.W. 7, Friedrichstr. 140), der über alle Fragen weiter Auskunft gibt, Prospekte verschickt und die Anmeldung von Vorträgen annimmt.

Die Hauptsektionen sind: Rationelle Ernährungund Diätetik, Nahrungshygiene und Nahrungsmittelvergiftung, Biologische Physik und Energetik, Trinkwasserversorgung, Gesetzgebung, Bekämpfung der Verfälschungen, soziale Ernährungsfragen, Statistik u. a.


UNIVERSITY OF MICHIGAN
3 9015 04551 8126